



UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA  
Faculdade de Medicina Veterinária

CONTRIBUIÇÃO PARA A CARACTERIZAÇÃO DO PARASITISMO EM SUÍNOS DE RAÇA  
IBÉRICA E JAVALIS SILVESTRES DAS COMUNIDADES AUTÓNOMAS DA *EXTREMADURA*  
E *CASTILLA Y LEÓN* (ESPANHA) E DOS FACTORES DE RISCO ASSOCIADOS.

Marisa de Guadalupe Carriço Neves

ORIENTADOR

Doutor David Reina Esojo

CO-ORIENTADOR

Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho

2013  
LISBOA





UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA  
Faculdade de Medicina Veterinária

CONTRIBUIÇÃO PARA A CARACTERIZAÇÃO DO PARASITISMO EM SUÍNOS DE RAÇA  
IBÉRICA E JAVALIS SILVESTRES DAS COMUNIDADES AUTÓNOMAS DA *EXTREMADURA*  
E *CASTILLA Y LEÓN* (ESPANHA) E DOS FACTORES DE RISCO ASSOCIADOS.

Marisa de Guadalupe Carriço Neves

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

ORIENTADOR

Doutor David Reina Esojo

CO-ORIENTADOR

Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho

2013  
LISBOA





### **Dedicatória:**

Dedico este trabalho à minha família, por todo o apoio, amor e dedicação.

Para o meu pai, José Neves, por tornar este sonho realidade, por ser a pessoa mais importante na minha vida e um exemplo a seguir.

Para a minha mãe, Maria Vitória, por todo o carinho e ombro amigo.

Para a Armanda, pelo conforto, bem-estar, aconchego e estabilidade oferecidos.

Para a Jesulinda, pelos valores transmitidos.

Para o meu primo Hélder Conceição, por todo o apoio, ajuda e ombro amigo.

Para os meus avós, pelas histórias inspiradoras.

## Agradecimentos

*“...cada momento, cada situação enfrentada nas nossas trajectórias é um desafio, uma oportunidade única de aprender, de nos tornarmos pessoas melhores. Só depende de nós, das nossas escolhas...”*  
Albert Einstein.

Em primeiro lugar agradeço ao Professor Doutor David Reina Esojo, meu orientador, pela possibilidade que me foi dada de realizar o estágio na Faculdade de Veterinária de Cáceres - Universidade da Extremadura, em Espanha, por toda a simpatia, contactos de colaboradores e bibliografia facultada, organização e delineação do presente trabalho. Os meus sinceros agradecimentos.

Seguidamente, agradeço ao Professor Doutor Luís Madeira de Carvalho, meu co-orientador, pelas palavras amigas de incentivo, pela boa disposição e pelo seu trabalho admirável ao tornar a Parasitologia um mundo ainda mais curioso. Muito obrigada por tudo.

Quero agradecer, especialmente, ao Doutor Rafael Calero Bernal pela sua ajuda, partilha de informação e conhecimentos, pelas palavras de incentivo e de motivação, pelo companheirismo durante todo este período. Os meus sinceros agradecimentos pois foi sem dúvida a pessoa que mais me ajudou e ensinou nesta fase.

Agradeço à Professora Doutora Eva Frontera Carrión por toda a ajuda prestada, partilha de informação, conhecimentos, contactos de colaboradores e pela simpatia.

Muito obrigada ao Doutor José António Gamito Santos pela partilha de informação, conhecimentos, contactos de colaboradores, pela sua boa disposição, humildade e palavras de incentivo.

Agradeço ao Dr. Nacho Grande e também ao Dr. Juan Carnero, por tornarem possível a minha participação e acompanhamento na inspecção em actividades cinegéticas de caça maior bem como na visita à Indústria de tratamento de carnes de caça maior.

Agradeço a todos os produtores pecuários que participaram, especialmente na resposta ao inquérito de exploração. Muito obrigada ao colaborador Alfredo Rodríguez pela sua preciosa ajuda na recolha de amostras.

Não me quero esquecer de ninguém! Obrigada ao Dr. Inocente Frontera Carrión, ao Doutor Rafael Calero, à Dra. Angela García González, ao Daniel, ao Alejandro Tovar, ao David Gragera Cordero, ao Dr. Guillermo e aos alunos internos de Parasitologia da FVC-UEx que participaram de forma mais activa, nomeadamente, Manuel, Marta Lázaro, Gonzalo, Pablo, Isabel Maria e Tomás. Obrigada ao Médicos Veterinários inspectores dos matadouros de Cáceres e Arroyo de la Luz e a todo o grupo de trabalhadores presentes, por toda a simpatia e disponibilidade.

Obrigada às pessoas do departamento das Doenças Infecciosas da FVC-UEX pela colaboração. Obrigada à Maria e à Elisa.

Agradeço a simpatia de todas as pessoas do departamento de Parasitologia da FVC-UEX: aos Professores Doutores, nomeadamente, Francisco Serrano Aguilera, Henrique Pérez Martín, Miguel Ángel Habela, Carlos Gómez Nieto; e também ao Dr. Juan Blanco, Dr. Daniel Barriga, Isa, Manolo, Vitória, Dra. Sílvia, Dr. Javi, Dra. Virgínia e Dr. Rubén.

Obrigada ao Dr. Rubén Pascual Franco pelo companheirismo e dedicação, pela amizade, simpatia, boa disposição e palavras de entusiasmo.

Muito obrigada ao Professor Telmo Nunes da FMV pela sua preciosa ajuda e paciência. Obrigada ainda a todos os Professores, técnicos de laboratório e colegas que acompanharam o meu percurso académico e contribuíram para a minha formação.

Por último, mas não menos importante, quero agradecer às pessoas especiais que fazem parte da minha vida ou que fizeram parte dela.

Obrigada às minhas queridas amigas, Filipa Mira, Joana Carvalho, Lúcia Féteira, Susana Soares, Ana Luísa Brás, Maria Isabel Ferreira, Rita Bento e Sílvia Spínola; trabalhámos muito, ajudámo-nos a crescer e a evoluir, rimos muito e também chorámos. Foram momentos inesquecíveis e que vou sempre recordar.

Obrigada à minha companheira das tardes no laboratório de Parasitologia da FMV, Joana Lérias, pela amizade e companheirismo. Agradeço à Carolina Merino por todos os momentos de humor partilhados em alturas em que ele era essencial. Obrigada à minha amiga Marta Guerreiro que apesar de longe está sempre perto.

Muito obrigada à minha família por todo o apoio, por acreditarem em mim e por tornarem este sonho realidade.



## Resumo

De Novembro de 2011 a Abril de 2012, o principal objectivo foi conhecer a parasitofauna dos suínos da raça ibérica e javalis, zoonóticos e não zoonóticos, pertencentes às Comunidades Autónomas da *Extremadura* e *Castilla y León* (Espanha).

O estudo parasitológico do porco Ibérico com base em amostras de fezes recolhidas *antemortem* e analisadas por métodos coprológicos qualitativos, quantitativo, coprocultura e Método de Baermann, em lotes de produção de 55 explorações pecuárias revelou que todas elas estavam infectadas pelo menos por um parasita, destacando a alta prevalência de *Balantidium coli* (94,5%), Subordem Strongylida (65,5%) e Família Eimeriidae (56,4%) e uma moderada presença de *Metastrongylus* spp. (23,6%), *Trichuris suis* (18,2%) e *Ascaris suum* (12,7%). Identificámos, em cinco de seis explorações estudadas, larvas L3 de *Oesophagostomum* spp. (83,3%). Os factores de risco obtidos a partir da análise dos inquéritos efectuados nas suiniculturas e que mais influenciam a presença de parasitas nessas explorações, são os relativos às medidas de biossegurança e às características das pocilgas (OR>1). O estudo da parasitofauna do porco Ibérico procedente de amostras biológicas recolhidas *postmortem* em matadouros, revelou que todos eles estavam infectados pelo menos por um parasita, destacando a alta prevalência de protozoários, *Sarcocystis* spp. (90,0%), *B. coli* (89,0%) e Família Eimeriidae (68,0%), uma moderada presença de *Metastrongylus* spp. (53,0% nos pulmões e 25,0% nas fezes), *Toxoplasma gondii* (25,9% mediante iELISA e 33,9% mediante nPCR) e *T. suis* (24,0%) e uma baixa prevalência de *A. suum* (8,0%), Subordem Strongylida (8,0%) e *Echinococcus granulosus* (3,0%) e a ausência de *Trichinella* spp. Os animais do sexo feminino foram mais susceptíveis à infecção por *T. suis*, os jovens a *T. suis* e Subordem Strongylida. Os procedentes dos municípios de Cáceres e Salorino, parecem mais susceptíveis a *Metastrongylus* spp., Família Eimeriidae, Subordem Strongylida e *T. suis*, os procedentes dos municípios de Brozas e Salorino a *Sarcocystis* spp. Os animais de raça 75% ibérica são mais susceptíveis a *B. coli*, Família Eimeriidae, *Metastrongylus* spp., Subordem Strongylida e *T. suis* e os criados em sistemas semiextensivos são mais susceptíveis a *T. suis* e Subordem Strongylida ( $p<0,05$ ). Mediante nPCR, detectou-se, pela primeira vez na Europa, ADN de *T. gondii* a partir de linfonodos mesentéricos. Detectaram-se, pela técnica de McMaster, maiores cargas parasitárias para a Família Eimeriidae, seguido de *Metastrongylus* spp. e *T. suis* e menores para a Subordem Strongylida e *A. suum*. A espécie predominante pertencente ao género *Metastrongylus* é *M. apri*, seguida de *M. salmi* e de *M. pudendotectus* no caso do porco Ibérico e *M. apri*, *M. pudendotectus* e *M. salmi* no caso do javali. A carga média parasitária foi de 25 e 55 parasitas por indivíduo para o porco Ibérico e javali, respectivamente. O rácio fêmea/macho detectado foi de 2,23 e 1,5, no porco Ibérico e javali, respectivamente. No estudo da parasitofauna dos javalis proveniente de amostras biológicas *postmortem* recolhidas em montarias, constatámos que este animal é um reservatório de parasitas para o porco Ibérico (e vice-versa), nomeadamente *B. coli*, Subordem Strongylida, Família Eimeriidae, *Metastrongylus* spp., *T. suis*, *Macracanthorhynchus hirudinaceus* e *A. suum*, pois além da relação filogenética elevada, partilham o mesmo ecossistema. Os resultados obtidos serão importantes para melhorar o programa de desparasitação e diminuir os factores de risco relacionados com a infecção dos suínos de raça ibérica em extensivo.

**Palavras-chave:** parasitas; porco Ibérico; javali; factores de risco; *Extremadura*; *Castilla y León*; Espanha.

## Abstract

Between November 2011 and April 2012, the main objective was to gather information regarding the parasitofauna of Iberian pigs and wild boars, including both zoonotic and non-zoonotic agents, in Extremadura and Castile and León (Spain).

The parasitological assessment of the parasitofauna of Iberian pigs through the analysis of fecal samples, collected *antemortem* from production lots of 55 swine farms, submitted to qualitative and quantitative laboratory techniques, fecal cultures and the Baermann technique, revealed that all the piggeries were infected by at least one parasitic agent, with emphasis on the a high prevalence of *Balantidium coli* (94,5%), Suborder Strongylida (65,5%) and Family Eimeriidae (56,4%) and moderate prevalence of *Metastrongylus* spp. (23,6%), *Trichuris suis* (18,2%) and *Ascaris suum* (12,7%); in five of six swine farms studied, we identified *Oesophagostomum* spp. L3 larvae (83,3%). The analysis of the data obtained from the inquiry forms, filled by farm owners/managers, revealed that the main risk factors which influence the presence of parasitic agents on those swine farms, are related with biosecurity measures and the characteristics of the pigpens (OR>1). The study of the individual parasitofauna of Iberian pigs, through the examination of biological samples collected *postmortem* in slaughterhouses, showed that all specimens were infected by at least one parasitic species, with highlight to the high prevalence of protozoa, such as *Sarcocystis* spp. (90,0%), *B. coli* (89,0%) and members of Family Eimeriidae (68,0%), moderate presence of *Metastrongylus* spp. (53,0% in lungs and 25% in faeces), *Toxoplasma gondii* (25,9% with ELISA and 33,9% with nPCR) and *T. suis* (24,0%), low prevalence of *A. suum* (8,0%), Suborder Strongylida (8,0%) and *Echinococcus granulosus* (3,0%) and an absence of *Trichinella* spp. Female animals were more prone to *T. suis* infections, as well as the young ones, which are also more susceptible to parasitic agents of Suborder Strongylida. Animals from Cáceres and Salorino seem more vulnerable to *Metastrongylus* spp., Family Eimeriidae, Suborder Strongylida and *T. suis*, and those from Brozas and Salorino to *Sarcocystis* spp. Pigs 75% Iberian are more prone to *B. coli*, Family Eimeriidae, *Metastrongylus* spp., Suborder Strongylida and *T. suis*, and those raised under semi-extensive production systems are more susceptible to *T. suis* and Suborder Strongylida ( $p<0,05$ ). By means of nPCR, it was detected, for the first time in Europe, *T. gondii* DNA, from mesenteric lymph nodes. We also detected, with the McMaster technique, higher parasite loads for Family Eimeriidae, followed by *Metastrongylus* spp. and *T. suis*, and lower for Suborder Strongylida and *A. suum*.

The predominant species of the genus *Metastrongylus* is *M. apri*, followed by *M. salmi* and *M. pudendotectus*, referring to the Iberian pig, and *M. apri*, *M. pudendotectus* and *M. salmi* in the wild boar. The determined average parasitic load was 25 and 55 parasites per individual in the Iberian pig and wild boar, respectively; the observed male/female ratio 2,23 for the Iberian pig and 1,5 for the wild boar.

The study of the parasitic fauna of wild boars obtained by means of analysis of *postmortem* biological samples, revealed this animal constitutes a reservoir for parasitic agents of the Iberian pig, namely, *B. coli*, Suborder Strongylida, Family Eimeriidae, *Metastrongylus* spp., *T. suis*, *Macracanthorhynchus hirudinaceus* and *A. suum*, which is not surprising since they share a close phylogenetic relationship and the same ecosystem. The obtained results will be relevant as a means of improving the deworming programs and diminishing the risk factors associated with the infection of Iberian pigs raised under extensive production systems.

**Keywords:** Iberian pig; Wild boar; parasitic agents; risk factors; Extremadura; Castille and León; Spain.

# Índice geral:

Agradecimentos .....	i
Resumo .....	iv
Abstract.....	v
Índice geral: .....	vi
Lista de figuras .....	ix
Lista de gráficos.....	x
Lista de tabelas .....	xii
Lista de abreviaturas e siglas .....	xiv
<b>1. Relatório de estágio .....</b>	<b>16</b>
<b>1.1. Actividades desenvolvidas durante o estágio .....</b>	<b>16</b>
<b>1.1.1. Descrição das actividades de carácter formativo realizadas durante o estágio .....</b>	<b>16</b>
<b>1.1.2. Descrição das actividades de investigação realizadas durante o estágio .....</b>	<b>18</b>
<b>2. Introdução.....</b>	<b>19</b>
<b>2.1. Apresentação do trabalho e contextualização.....</b>	<b>19</b>
<b>3. Revisão bibliográfica.....</b>	<b>21</b>
<b>3.1. Porco Ibérico.....</b>	<b>21</b>
<b>3.1.1. Apresentação da raça .....</b>	<b>21</b>
<b>3.1.2. Definições .....</b>	<b>22</b>
<b>3.1.3. Fases e sistemas de produção .....</b>	<b>24</b>
<b>3.1.4. Gestão do porco Ibérico .....</b>	<b>25</b>
<b>3.1.5. Interacção porco Ibérico - javali.....</b>	<b>26</b>
<b>3.1.6. O porco Ibérico no Sudoeste peninsular .....</b>	<b>27</b>
<b>3.2. Parasitas não zoonóticos do porco Ibérico .....</b>	<b>28</b>
<b>3.2.1. Família Eimeriidae .....</b>	<b>28</b>
<b>3.2.2. <i>Macracanthorhynchus hirudinaceus</i> .....</b>	<b>33</b>
<b>3.2.3. Nemátodes pulmonares.....</b>	<b>35</b>
<b>3.2.4. Nemátodes gastrointestinais .....</b>	<b>40</b>
<b>3.2.5. Outros Nemátodes gastrointestinais .....</b>	<b>50</b>
<b>3.3. Parasitas zoonóticos do porco Ibérico .....</b>	<b>55</b>
<b>3.3.1. <i>Balantidium coli</i> .....</b>	<b>55</b>
<b>3.3.2. <i>Sarcocystis</i> spp. ....</b>	<b>58</b>
<b>3.3.3. <i>Toxoplasma gondii</i> .....</b>	<b>62</b>
<b>3.3.4. <i>Echinococcus</i> spp.....</b>	<b>70</b>
<b>3.3.5. <i>Trichinella</i> spp. ....</b>	<b>76</b>
<b>3.4. Medidas de controlo e prevenção de parasitas .....</b>	<b>83</b>

<b>4. Contribuição para a caracterização do parasitismo em suínos da raça Ibérica e javalis silvestres das Comunidades Autónomas da <i>Extremadura</i> e <i>Castilla y León</i> (Espanha) e dos factores de risco associados .....</b>	<b>88</b>
4.1. Objectivos.....	88
4.2. Material e Métodos.....	89
4.2.1. Desenho experimental .....	89
4.2.1.1. Recolha das amostras e entrega do inquérito de exploração.....	90
4.2.2. Metodologia diagnóstica – processamento de amostras.....	92
4.2.2.1. Métodos directos de diagnóstico .....	92
4.2.2.2. Métodos indirectos de diagnóstico .....	98
4.2.3. Equipamentos de análise .....	99
4.2.4. Factores de risco: Inquérito de exploração .....	99
4.2.5. Análise estatística .....	100
4.3. Resultados .....	100
4.3.1. Animais objecto de estudo e área de estudo.....	101
4.3.2. Parasitofauna do porco Ibérico resultado da análise de fezes, <i>antemortem</i> , recolhidas em explorações.....	105
4.3.2.1. Prevalência global .....	105
4.3.2.2. Prevalência em lotes de produção.....	106
4.3.2.3. Prevalência em sistemas de produção .....	109
4.3.3. Resultados dos inquéritos de exploração.....	111
4.3.3.1. Resultados dos dados relativos ao proprietário/gestor .....	111
4.3.3.2. Resultados dos dados relativos à exploração e efectivo suíno de raça ibérica .....	111
4.3.3.3. Resultados das medidas de profilaxia aplicadas na exploração .....	113
4.3.3.4. Resultados das medidas de biossegurança aplicadas na exploração .....	115
4.3.4. Parasitofauna individual do porco Ibérico proveniente da análise de amostras biológicas, <i>postmortem</i> , recolhidas em matadouros.....	124
4.3.4.1. Prevalência global .....	124
4.3.4.2. Seroprevalência e prevalência de <i>Toxoplasma gondii</i> .....	125
4.3.4.3. Intensidade de parasitismo .....	127
4.3.4.4. Intensidade de parasitismo e espécies de <i>Metastrongylus</i> spp. ....	127
4.3.4.5. Prevalência por sexo, idade, municípios, grau de pureza da raça e sistemas de produção.....	130
4.3.5. Parasitofauna dos javalis proveniente da análise de amostras biológicas, <i>postmortem</i> , recolhidas em montarias.....	132
4.3.5.1. Prevalência, intensidade de parasitismo e espécies de <i>Metastrongylus</i> spp.....	133
4.3.6. Análise dos factores de risco.....	135



<b>4.4. Discussão .....</b>	<b>138</b>
<b>4.4.1. Parasitofauna do porco Ibérico resultado da análise de fezes, <i>antemortem</i>, recolhidas em explorações.....</b>	<b>138</b>
4.4.1.1. Prevalência global .....	138
4.4.1.2. Prevalência em lotes de produção.....	141
4.4.1.3. Prevalência em sistemas de produção .....	144
<b>4.4.2. Inquéritos de exploração .....</b>	<b>146</b>
<b>4.4.3. Parasitofauna individual do porco Ibérico proveniente da análise de amostras biológicas recolhidas, <i>postmortem</i>, em matadouros .....</b>	<b>151</b>
4.4.3.1. Prevalência global, intensidade de parasitismo e espécies de <i>Metastrongylus</i> spp. ....	151
4.4.3.2. Prevalência por sexo, idade, município, grau de pureza da raça e sistema de produção.....	154
<b>4.4.4. Parasitofauna dos javalis proveniente da análise de amostras biológicas, <i>postmortem</i>, recolhidas em montarias.....</b>	<b>156</b>
<b>4.4.5. Factores de risco .....</b>	<b>158</b>
<b>5. Conclusões.....</b>	<b>159</b>
<b>6. Bibliografia .....</b>	<b>162</b>
<b>Anexos .....</b>	<b>183</b>
Anexo 1. Actividades desenvolvidas durante o estágio .....	183
Anexo 2. Relatório dos resultados coprológicos .....	193
Anexo 3. Inquérito de exploração .....	194
Anexo 4. Protótipo racial do porco Ibérico.....	196
Anexo 5. Protótipo racial dos machos de raça Duroc .....	198
Anexo 6. Designação do tipo de alimentação do porco Ibérico .....	200
Anexo 7. Técnicas coprológicas.....	201
Anexo 8. Exame de tecido muscular .....	203
Anexo 9. Protocolo da técnica <i>nested</i> PCR.....	204
Anexo 10. Protocolo da técnica ELISA indirecta .....	205
Anexo 11. Equipamentos de análise.....	206

## Lista de figuras

Figura 1: Oocistos não esporulados da Família Eimeriidae. Ampliação total de 400x.....	28
Figura 2. Ovo de <i>Macracanthorhynchus hirudinaceus</i> . Ampliação total de 100x. ....	34
Figura 3. Extremidade anterior de <i>Macracanthorhynchus hirudinaceus</i> adulto .....	35
Figura 4. Extremidade anterior de <i>Metastrongylus</i> spp. Ampliação total de 400x. ....	35
Figura 5. Extremidade posterior de fêmea de <i>Metastrongylus salmi</i> . Ampliação total de 400x.....	36
Figura 6. Extremidade posterior de fêmea de <i>Metastrongylus apri</i> . Ampliação total de 400x.....	37
Figura 7. Extremidade posterior de fêmea de <i>Metastrongylus pudendotectus</i> . Ampliação total de 400x. .....	37
Figura 8. Minhocas. Hospedeiro intermediário no ciclo biológico de <i>Metastrongylus</i> spp.....	37
Figura 9. Ovo contendo larva no 1º estadio <i>Metastrongylus</i> spp. Ampliação total de 400x.....	37
Figura 10. Ovo da Subordem Strongylida. Ampliação total de 400x. ....	40
Figura 11. Ovo de <i>Trichuris suis</i> . Ampliação total de 1000x. ....	43
Figura 12. Ovo de <i>Ascaris suum</i> . Ampliação total de 1000x. ....	47
Figura 13. Quisto de <i>Balantidium coli</i> . Ampliação total de 400x.....	55
Figura 14. Trofozoíto de <i>Balantidium coli</i> . Ampliação total de 400x.....	56
Figura 15. Quisto de <i>Sarcocystis</i> spp. no músculo cardíaco de suíno. Ampliação total de 400x.....	59
Figura 16. Bradizoítos de <i>Toxoplasma gondii</i> a formar um quisto cerebral. ....	63
Figura 17. Taquizoítos de <i>Toxoplasma gondii</i> .....	63
Figura 18. Oocisto de <i>Toxoplasma gondii</i> . ....	63
Figura 19. Adulto de <i>Echinococcus granulosus</i> .....	71
Figura 20. Protoescolices. ....	71
Figura 21. Ovo de <i>Echinococcus granulosus</i> .....	71
Figura 22. Larvas 1 de <i>Trichinella</i> spp. livres do tecido muscular depois da realização da digestão artificial péptica .....	77
Figura 23. Reagentes utilizados na técnica de flutuação utilizando solução saturada de NaCl .....	92
Figura 24. Técnica de sedimentação em copo cónico .....	93
Figura 25. Câmara de McMaster.....	93
Figura 26. Aparelho de digestão artificial péptica mediante agitador magnético.....	94
Figura 27. Material utilizado na digestão artificial trípica.....	94
Figura 28. <i>Metastrongylus</i> spp. no pulmão de suíno.....	95
Figura 30. Material utilizado na realização da técnica ELISA indirecta.....	98
Figura 31. Mapa representativo da Comunidade Autónoma da <i>Extremadura</i> (Espanha).....	102
Figura 32. Mapa representativo da Comunidade Autónoma de <i>Castilla y León</i> (Espanha). ....	102
Figura 33. Resultado da PCR2 com identificação dos animais positivos a <i>T. gondii</i> . ....	126

## Lista de gráficos

Gráfico 1. Percentagem de lotes a que pertencem os animais das 55 explorações pecuárias estudadas em função dos 87 lotes analisados. ....	101
Gráfico 2. Percentagem de sistemas a que pertencem os animais das 55 explorações pecuárias estudadas em função dos 87 lotes analisados. ....	101
Gráfico 3. Percentagem de províncias a que pertencem os animais das 55 explorações pecuárias estudadas em função dos 87 lotes analisados. ....	102
Gráfico 4. Percentagem de lotes a que pertencem os 100 animais analisados <i>postmortem</i> (procedentes de matadouro). ....	103
Gráfico 5. Percentagem de sistemas a que pertencem os 100 animais analisados, <i>postmortem</i> (procedentes de matadouro). ....	103
Gráfico 6. Percentagem relativa à pureza da raça a que pertencem os 100 animais analisados, <i>postmortem</i> (procedentes de matadouro). ....	103
Gráfico 7. Percentagem de comarcas a que pertencem os 100 animais analisados, <i>postmortem</i> (procedentes de matadouro). ....	103
Gráfico 8. Percentagem de municípios a que pertencem os 100 animais analisados, <i>postmortem</i> (procedentes de matadouro). ....	103
Gráfico 9. Percentagem relativa às idades a que pertencem os 100 animais analisados, <i>postmortem</i> (procedentes de matadouro). ....	104
Gráfico 10. Percentagem relativa ao género a que pertencem os 100 animais analisados, <i>postmortem</i> (procedentes de matadouro). ....	104
Gráfico 11. Percentagem relativa às idades dos lotes de javalis analisados. ....	104
Gráfico 12. Percentagem relativa aos Municípios dos lotes de javalis analisados. ....	105
Gráfico 13. Habilitações académicas dos inquiridos, em termos percentuais. ....	111
Gráfico 14. Sistemas de produção existentes na exploração, em termos percentuais. ....	112
Gráfico 15. Ocorrência de alterações nos animais, em termos percentuais. ....	113
Gráfico 16. Desparasitação do efectivo, em termos percentuais. ....	113
Gráfico 17. Produtos utilizados na desparasitação, em termos percentuais. ....	113
Gráfico 18. Frequência de desparasitação, em termos percentuais. ....	114
Gráfico 19. Desparasitação em função da estação do ano, em termos percentuais. ....	114
Gráfico 20. Avaliação da eficácia do tratamento anti-parasitário, em termos percentuais. ....	114
Gráfico 21. Programa profiláctico vacinal nas explorações, em termos percentuais. ....	115
Gráfico 22. Presença de vedações na exploração, em termos percentuais. ....	115
Gráfico 23. Existência de rodilúvio na exploração (%). ....	115
Gráfico 24. Existência de desinfectante no rodilúvio (%). ....	116
Gráfico 25. Existência de instalações próprias para os trabalhadores ou visitantes ocasionais na exploração, em termos percentuais. ....	116
Gráfico 26. Existência de silos na exploração, em termos percentuais. ....	116
Gráfico 27. Proximidade dos silos da entrada da exploração (%). ....	116
Gráfico 28. Proximidade da zona de carga e descarga de animais da entrada da exploração, em termos percentuais. ....	117
Gráfico 29. Percentagem de explorações em que os visitantes mudam de roupa à chegada. ....	117
Gráfico 30. Facilidade da drenagem dos terrenos, em termos percentuais. ....	117
Gráfico 31. Existência de refúgios para os animais, em termos percentuais. ....	118
Gráfico 32. Existência de cercas/instalações de cobrição e de parto (%). ....	118
Gráfico 33. Tipo de cercas de cobrição e parto, em termos percentuais. ....	118
Gráfico 34. Limpeza das cercas/instalações após a sua utilização (%). ....	118

Gráfico 35. Desinfecção das cercas/instalações após a sua utilização (%). .....	119
Gráfico 36. Existência de cercas/instalações de quarentena e isolamento sanitário (%). .....	119
Gráfico 37. Realização de quarentena em função da existência de cercas/instalações (%). .....	119
Gráfico 38. Características das cercas/instalações de quarentena e isolamento sanitário (%). .....	120
Gráfico 39. Explorações com zonas de pastoreio pastoreadas recentemente (%). .....	120
Gráfico 40. Explorações onde se criam mais espécies animais para além dos suínos (%). .....	120
Gráfico 41. Espécies animais criadas na exploração, para além dos suínos (%). .....	121
Gráfico 42. Explorações em que as zonas de pastoreio são pastoreadas por animais de outra exploração, em termos percentuais. ....	121
Gráfico 43. Explorações em que o pastoreio é efectuado em zonas com cursos de água e/ou áreas encharcadas (%). ....	121
Gráfico 44. Explorações que fazem rotação das pastagens, em termos percentuais. ....	122
Gráfico 45. Percentagem de explorações com pocilgas adequados, limpos e secos. ....	122
Gráfico 46. Explorações onde existe vazio sanitário, em termos percentuais. ....	122
Gráfico 47. Características das pocilgas presentes nas explorações (%). ....	123
Gráfico 48. Características dos solos dos pocilgas (%). ....	123
Gráfico 49. Explorações que têm colectores de drenagem de efluentes com um encerramento seguro (%). ....	123
Gráfico 50. Explorações onde não existem planos de limpeza e desinfecção, controlo de insectos e prevenção para roedores (%). ....	124
Gráfico 51. Explorações onde existem cães e/ou gatos, onde os cães e/ou gatos entram nas instalações, onde os cães e/ou gatos não estão vacinados nem desparasitados. ....	124
Gráfico 52. Intensidade de parasitismo de 100 suínos de raça ibérica abatidos em matadouro. ....	127
Gráfico 53. Percentagem de animais positivos a cada uma das espécies identificadas de <i>Metastrongylus</i> spp. ....	129
Gráfico 54. Percentagem de animais positivos a <i>Metastrongylus apri</i> nos pulmões esquerdo e direito. ....	129
Gráfico 55. Percentagem de animais positivos a <i>Metastrongylus pudendotectus</i> nos pulmões esquerdo e direito. ....	129
Gráfico 56. Percentagem de animais positivos a <i>Metastrongylus salmi</i> nos pulmões esquerdo e direito. ....	129
Gráfico 57. Percentagem de animais positivos a cada uma das espécies identificadas de <i>Metastrongylus</i> spp. ....	135
Gráfico 58. Percentagem de animais positivos a <i>Metastrongylus apri</i> nos pulmões esquerdo e direito. ....	135
Gráfico 59. Percentagem de animais positivos a <i>Metastrongylus pudendotectus</i> nos pulmões esquerdo e direito. ....	135
Gráfico 60. Percentagem de animais positivos a <i>Metastrongylus salmi</i> nos pulmões esquerdo e direito. ....	135

## Lista de tabelas

Tabela 1. Distribuição dos partos e idade de abate nas explorações de porco Ibérico.....	25
Tabela 2. Distribuição do porco Ibérico em Espanha, por província (%). (Benito <i>et al.</i> , 1997) .....	28
Tabela 3. Estudos de prevalência de Família Eimeriidae no javali.....	31
Tabela 4. Estudos de prevalência de Família Eimeriidae em suínos domésticos de alguns países.....	31
Tabela 5. Estudos de prevalência de <i>M. hirudinaceus</i> no javali em alguns países. ....	34
Tabela 6. Principais características morfológicas de <i>M. apri</i> , <i>M. pudendotectus</i> e <i>M. salmi</i> .....	36
Tabela 7. Resumo dos factores que favorecem a presença da Metastrongilose.....	39
Tabela 8. Dados publicados sobre prevalência de <i>Metastrongylus</i> spp. em alguns países da Europa. .	39
Tabela 9. Estudos de prevalência de <i>Oesophagostomum</i> spp. no javali. ....	42
Tabela 10. Estudos de prevalência de <i>Oesophagostomum</i> spp. em suínos domésticos de alguns países. .....	42
Tabela 11. Estudos de prevalência de <i>T. suis</i> no javali. ....	45
Tabela 12. Estudos de prevalência de <i>T. suis</i> em suínos domésticos de alguns países. ....	45
Tabela 13. Estudos de prevalência de <i>Ascaris suum</i> no javali. ....	49
Tabela 14. Estudos de prevalência de <i>A. suum</i> em suínos domésticos de alguns países.....	49
Tabela 15. Estudos de prevalência de <i>B. coli</i> no javali em alguns países. ....	57
Tabela 16. Estudos de prevalência de <i>B. coli</i> em suínos domésticos de alguns países. ....	57
Tabela 17. Estudos de prevalência de <i>Sarcocystis</i> spp. no javali em alguns países.....	60
Tabela 18. Estudos de prevalência de <i>Sarcocystis</i> spp. em suínos domésticos de alguns países.....	61
Tabela 19. Estudos de prevalência de <i>T. gondii</i> no javali em alguns países da Europa. ....	66
Tabela 20. Estudos de prevalência de <i>T. gondii</i> nos suínos domésticos em alguns países da Europa. .	66
Tabela 21. Dados publicados sobre seroprevalência de <i>T. gondii</i> no Homem. ....	68
Tabela 22. Dados publicados sobre seroprevalência de <i>T. gondii</i> em Portugal. ....	68
Tabela 23. Estudos de prevalência de <i>E. granulosus</i> e caracterização genética nos suínos domésticos em alguns países.....	74
Tabela 24. Estudos de prevalência de <i>E. granulosus</i> em canídeos em alguns países. ....	74
Tabela 25. Estudos de <i>Trichinella</i> spp. na Europa em alguns dos hospedeiros susceptíveis.....	80
Tabela 26. Surtos/casos de infecção por <i>Trichinella</i> spp. na Europa em Humanos.....	81
Tabela 27. Volume, concentração e referência dos componentes da mistura de reacção. ....	96
Tabela 28. Denominação dos <i>primers</i> da PCR1, sequência e posição no gene B1 de <i>T. gondii</i> .....	96
Tabela 29. Amostra e procedência do controlo positivo e negativo.....	96
Tabela 30. Programa de ciclos de amplificação da PCR1.....	97
Tabela 31. Denominação dos <i>primers</i> da PCR2, sequência e posição no gene B1 de <i>T. gondii</i> .....	97
Tabela 32. Interpretação dos resultados obtidos na ELISA indirecta.....	99
Tabela 33. Prevalência global da parasitofauna do porco Ibérico nas 55 explorações analisadas .....	105
Tabela 34. Prevalência da parasitofauna nos lotes analisados do porco Ibérico de montanha.....	106
Tabela 35. Prevalência da parasitofauna nos lotes analisados do porco Ibérico de engorda.....	107
Tabela 36. Prevalência da parasitofauna do porco Ibérico nos lotes de reprodutores analisados .....	107
Tabela 37. Prevalência da parasitofauna do porco Ibérico nos lotes de cria analisados .....	108
Tabela 38. Prevalência da parasitofauna do porco Ibérico nos lotes de recria analisados .....	108
Tabela 39. Prevalência da parasitofauna do porco Ibérico nos sistemas extensivos analisados .....	109
Tabela 40. Prevalência da parasitofauna do porco Ibérico nos sistemas intensivos analisados .....	110
Tabela 41. Prevalência da parasitofauna do porco Ibérico nos sistemas semiextensivos analisados..	110
Tabela 42. Distribuição das explorações analisadas por Municípios, em termos percentuais. ....	112
Tabela 43. Prevalência global da parasitofauna individual do porco Ibérico.....	125

Tabela 44. Resumo de reactividades e densidades médias segundo os parâmetros de positividade...	126
Tabela 45. Resultados da pesquisa de <i>Toxoplasma gondii</i> obtidos pela técnica ELISA indirecta e <i>nested</i> PCR. ....	127
Tabela 46. Número de <i>Metastrongylus</i> spp. identificados de acordo com o sexo e espécie das formas adultas assinaladas. ....	128
Tabela 47. Número de <i>Metastrongylus</i> spp. identificados de acordo com o sexo e espécie das formas adultas assinaladas no pulmão esquerdo. ....	128
Tabela 48. Número de <i>Metastrongylus</i> spp. identificados de acordo com o sexo e espécie das formas adultas assinaladas no pulmão direito. ....	128
Tabela 49. Prevalência de cada parasita em machos e fêmeas de suínos. ....	130
Tabela 50. Prevalência de cada parasita por idade. ....	130
Tabela 51. Prevalência de cada parasita por municípios. ....	131
Tabela 52. Prevalência de cada parasita segundo o grau de pureza da raça. ....	131
Tabela 53. Prevalência de cada parasita segundo os sistemas de exploração. ....	132
Tabela 54. Prevalência de cada parasita em javalis jovens. ....	132
Tabela 55. Prevalência de cada parasita em javalis adultos. ....	133
Tabela 56. Prevalência de cada parasita em javalis sem informação sobre a idade. ....	133
Tabela 57. Número de <i>Metastrongylus</i> spp. identificados em javalis de acordo com o sexo e espécie das formas adultas assinaladas. ....	134
Tabela 58. Número de <i>Metastrongylus</i> spp. identificados em javalis de acordo com o sexo e espécie das formas adultas assinaladas no pulmão esquerdo. ....	134
Tabela 59. Número de <i>Metastrongylus</i> spp. identificados em javalis de acordo com o sexo e espécie das formas adultas assinaladas no pulmão direito. ....	134
Tabela 60. Factores de risco para a presença de <i>Ascaris suum</i> . ....	136
Tabela 61. Factores de risco para a presença de <i>Balantidium coli</i> . ....	136
Tabela 62. Factores de risco para a presença de <i>Metastrongylus</i> spp. ....	136
Tabela 63. Factores de risco para a presença da Família Eimeriidae. ....	137
Tabela 64. Factores de risco para a presença da Subordem Strongylida. ....	137
Tabela 65. Factores de risco para a presença de <i>Trichuris suis</i> . ....	137

## Lista de abreviaturas e siglas

°C	Graus Celsius
%	Percentagem
μL	Microlitro
μm	Micrómetro
®	Marca Registada
∞	Infinito
ADN	Ácido desoxirribonucleico
Ac	Anticorpos
cm	Centímetro
EFSA	Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
EU	União Europeia
FMV	Faculdade de Medicina Veterinária
FVC	Facultad de Veterinária de Cáceres
g	Grama
ha	Hectare
H. D.	Hospedeiro definitivo
H. I.	Hospedeiro intermediário
I. C.	Intervalo de confiança
IFI	Imunofluorescência indirecta
IgG	Imunoglobulina de tipo G
IgM	Imunoglobulina de tipo M
Kg	Quilograma
L1	Larva de primeiro estágio
L2	Larva de segundo estágio
L3	Larva de terceiro estágio
L4	Larva de quarto estágio
L5	Larva de quinto estágio
MAT	Teste de Aglutinação Modificada
mg	miligrama
mL	mililitro
mm	milímetro
M. O.	Microscopia Óptica
MVO	Médico Veterinário Oficial
n	número de animais amostrados
nPCR	nested PCR
OPG	Ovos por Grama

OR	Odds Ratio
pb	Pares de bases
PBS	Phosphate Buffered Saline
pH	Potencial hidrogeniónico
PI	Pós infecção
PCR	Polymerase Chain Reaction
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
rpm	Rotações por minuto
Se	Sensibilidade
Sp	Especificidade
UEX	Universidade da Extremadura
UTL	Universidade Técnica de Lisboa



# **1. Relatório de estágio**

## **1.1. Actividades desenvolvidas durante o estágio**

Esta dissertação é resultado de um estágio realizado na *Facultad de Veterinaria de Cáceres* (FVC) pertencente à *Universidad de Extremadura* (UEX) em Espanha com a duração de sete meses, desde 1 de Setembro de 2011 a 30 de Abril de 2012, sob orientação do Professor Doutor David Reina Esojo. Compreendeu duas partes, uma delas de carácter formativo e outra de carácter de investigação.

A parte de carácter formativo constou essencialmente do:

- 1) Seguimento das actividades diárias de diagnóstico no Laboratório de Parasitologia do Hospital Veterinário da Faculdade de Veterinária da UEX;
- 2) Acompanhamento de Médicos Veterinários inspectores de actividades cinegéticas de caça maior em municípios da Comunidade Autónoma da *Extremadura*;
- 3) Acompanhamento de Médicos Veterinários de Sanidade Animal em algumas das actividades veterinárias nos Centros de Saúde *Extremeños*, concretamente a visita a uma Indústria de tratamento de carnes de caça maior.

A parte de carácter de investigação consistiu:

- 1) No estudo parasitológico do porco Ibérico em explorações pecuárias da Comunidade Autónoma da *Extremadura* e *Castilla y León* por sistemas de produção (extensivo, semiextensivo e intensivo) e por lotes de idades ou grupos de produção (reprodutores, engorda, recria e cria) e elaboração de um inquérito sobre factores de risco;
- 2) No estudo da realidade parasitológica individual do porco Ibérico da Comunidade Autónoma da *Extremadura* a nível de matadouros.
- 3) No estudo parasitológico de javalis silvestres da Comunidade Autónoma da *Extremadura* e *Castilla-La Mancha* a nível de montarias.

Seguidamente descrevemos de forma resumida as actividades de carácter formativo e de investigação. A descrição detalhada está apresentada em Anexo 1.

### **1.1.1. Descrição das actividades de carácter formativo realizadas durante o estágio**

Relativamente ao seguimento das actividades diárias no Laboratório de Parasitologia do Hospital Veterinário da Faculdade de Veterinária da UEX as amostras que chegavam, na sua maioria, eram amostras fecais de várias espécies animais. As técnicas de diagnóstico efectuadas foram as coprológicas de rotina, quer qualitativas (Flutuação e Sedimentação), quer quantitativas (McMaster) mas tivemos também oportunidade de reaprender o método Oficial de diagnóstico de *Trichinella* spp. (Regulamento CE 2075/2005) e de aprender o método de Erber modificado por Serrano *et al.*, (2010) para o diagnóstico de *Sarcocystis* spp.; também assistimos

e colaborámos em aulas práticas sobre exame da musculatura e de vísceras da disciplina de Doenças Parasitárias e ainda numa aula prática sobre a presença de parasitas na carne do *Master Oficial da Ciência e Tecnologia da Carne*. O restante tempo livre destes dois meses foi passado na biblioteca do Departamento de Parasitologia a consultar bibliografia de interesse para a realização desta dissertação.

Quanto ao acompanhamento de Médicos Veterinários inspectores de actividades cinegéticas de caça maior em municípios da Comunidade Autónoma da *Extremadura* e ao acompanhamento de Médicos Veterinários de Sanidade Animal em algumas das actividades veterinárias nos Centros de Saúde *Extremeños*, concretamente a visita a uma Indústria de tratamento de carnes de caça maior, estas actividades complementam-se, uma vez que o acompanhamento dos Médicos Veterinários inspectores em montarias foi seguido pela inspecção dessa carne ao nível da Indústria de carne de caça. Relativamente à assistência em montarias, o principal objectivo foi conhecer quais as actividades efectuadas pelo Médico Veterinário inspector no controlo sanitário das carnes de caça maior e também colher algumas amostras de javalis para a realização de um estudo comparativo com os resultados encontrados da parasitofauna do porco Ibérico, a fim de seguir uma linha de investigação já presente no Departamento de Sanidade Animal, Unidade de Parasitologia da FVC.

A inspecção *postmortem* das carcaças *in situ* é obrigatória em todas as montarias, sempre e quando algumas das suas peças estejam destinadas ao comércio de carne para consumo humano. Na *Extremadura* esta inspecção é realizada pelo Médico Veterinário Oficial (MVO). A propriedade onde se realiza a montaria deve ter instalações mínimas para realizar a inspecção *postmortem* que cumpram alguns requisitos (Anexo 1).

Em relação ao percurso relativo ao acto de inspecção nas montarias, este também se encontra detalhadamente descrito em Anexo 1. É necessário realçar a importância da inspecção veterinária da carne de caça e o passo marcante em relação à Segurança Alimentar que a legislação *extremeña* deu comparativamente à europeia, ao assegurar que esta inspecção é realizada sempre por parte de um Médico Veterinário, já que se tratam de animais que durante a sua vida não foram submetidos a nenhum controlo sanitário, embora sendo uma das produções com maior risco de zoonoses alimentares.

O processo de inspecção efectuado dentro da Indústria de carne de caça maior também está descrito de forma detalhada em Anexo 1, sendo o principal objectivo da visita à referida Indústria o de conhecer as actividades efectuadas pelo Médico Veterinário a este nível.

É ainda de referir, que em Dezembro de 2011, assistimos à apresentação de duas teses de Doutoramento de dois alunos do Departamento de Sanidade Animal, Unidade de Parasitologia da *Facultad de Veterinaria de Cáceres* da UEX, uma delas sobre Triquinelose e outra sobre Toxoplasmose.

Em Janeiro de 2012, publicámos um artigo na Revista *Caza Mayor* titulado: *Claves para combatir la 'triquinosis'* (Anexo 1).

Nos dias 13 e 14 de Abril de 2012, tivemos a oportunidade de participar nas *VII Jornadas Complutenses, VI Congreso Nacional de Investigación para alumnos pregraduados en Ciencias de la Salud e XI Congreso de Ciencias Veterinárias y Biomédicas*, onde assistimos a várias apresentações orais e de posters. O nosso grupo de trabalho realizou uma comunicação oral titulada: *Estudio comparativo de la parasitofauna del cerdo ibérico en Extremadura entre 1999 y la actualidad*; e defendeu um poster titulado *Prevalencia de Balantidium coli en el cerdo ibérico Extremeño* (Anexo 1).

Nos dias 29 e 30 de Novembro de 2012, participámos no Congresso Português de Parasitologia que decorreu na FMV-UTL, onde apresentámos dois posters titulados: *Estudo comparativo da parasitofauna dos suínos de raça Ibérica da Estremadura e Castela e Leão (Espanha) entre 1999 e a actualidade* e *Prevalência de Balantidium coli em suínos da raça Ibérica da Estremadura e Castela e Leão, Espanha* (Anexo 1).

### **1.1.2. Descrição das actividades de investigação realizadas durante o estágio**

Para o conhecimento da parasitofauna do porco Ibérico por lotes e sistemas de produção, foram estudados lotes de montanheira, de reprodutores, de engorda, de recria e de cria procedentes de sistema extensivo, intensivo e semi-extensivo. Esses lotes eram originários de explorações pecuárias de porco Ibérico pertencentes às Comunidades Autónomas da *Extremadura* e *Castilla y León* (Espanha), oriundos da Província de *Badajoz*, *Cáceres* e *Salamanca*. Para o diagnóstico de formas de disseminação de parasitas gastrointestinais e pulmonares, realizaram-se os métodos coprológicos de rotina, qualitativos e quantitativo e o método de Baermann para isolamento de larvas de 3º estadio (L3). Para conhecimento dos resultados obtidos realizou-se um relatório de resultados coprológico que foi entregue em mão ou enviado por correio electrónico ao proprietário dos animais em questão (Anexo 2). Realizou-se ainda um inquérito de exploração sobre factores de risco (Anexo 3).

Relativamente ao estudo da realidade parasitológica individual do porco Ibérico ao nível de matadouros, foram realizadas algumas visitas ao Matadouro de *Cáceres* e ao Matadouro de *Arroyo de la Luz* para a recolha de amostras (fezes, pulmões, linfonodos mesentéricos, sangue, coração e pilares de diafragma). Estes animais eram procedentes de propriedades referentes à Comunidade Autónoma da *Extremadura* (Espanha) e todos eles pertencentes à Província de *Cáceres*. As amostras de fezes foram processadas pelos métodos coprológicos de rotina; o coração, para diagnóstico de *Sarcocystis* spp. foi processado pelo método de Erber modificado por Serrano *et al.*, (2010); os pilares de diafragma, para o diagnóstico de *Trichinella* spp. foram processados pelo método oficial de digestão péptica (Regulamento (CE) 2075/2005); os pulmões para o diagnóstico de *Metastrongylus* spp. foram recolhidos pelo método de

observação directa e posteriormente identificados ao M.O.; os soros, para a pesquisa de Ac anti-*Toxoplasma gondii* foram processados pela técnica de ELISA indirecta e os linfonodos mesentéricos, para diagnóstico de ADN de *T. gondii* foram processados mediante reacção em cadeia da polimerase através da variante *nested* (nPCR).

## 2. Introdução

### 2.1. Apresentação do trabalho e contextualização

O subsector do porco Ibérico, é afectado pela crise económica desde 2008, como resultado de uma sobre produção pecuária e industrial, e uma queda das quotas, situação que foi recuperada em 2010. A combinação deste facto com um declínio na procura levou ao encerramento de explorações agrícolas, uma vez que os produtores foram forçados a diminuir os preços dos produtos para conseguirem eliminar os *stocks*. O lado positivo provém das exportações, pois as relativas à carne de suíno, quer em volume quer em unidades monetárias, aumentaram de forma satisfatória, na ordem dos 34%, entre 2007 e 2009. Por outro lado, as importações evoluíram em sentido contrário. Este nível de actividade nos mercados estrangeiros é uma indicação de que este subsector tem um elevado grau de profissionalismo e que os produtos se distinguem pela sua qualidade. Outro factor que explica as exportações é a necessidade de dar saída ao excesso de produção. É de assinalar que as vendas externas, a partir de Espanha, são muito concentradas nos mercados da União Europeia (EU), cerca de 90%, sendo os seus principais destinos, França, Itália, Portugal, Alemanha e Reino Unido, contudo, é de notar que se abrem novos mercados para a Austrália, China e Estados Unidos da América (EUA) (Moreno & Aguilera, 2011).

Como descrito no parágrafo anterior, os suínos são uma espécie valiosa na produção de carne para o consumo humano, e a rentabilidade da sua produção depende do grau de eficiência da mesma; as doenças parasitárias podem conduzir a perdas bastante significativas nos principais indicadores de eficiência produtiva. Quando uma parasitose está em curso, podem ocorrer várias perdas, tais como: a diminuição dos índices de conversão alimentar e das taxas de ganho de peso vivo; aumento da morbilidade e mortalidade; aumento das despesas com os tratamentos e serviços veterinários; rejeições de carcaças ou órgãos a nível dos matadouros e menor qualidade dos produtos obtidos. Sabe-se ainda que as espécies de parasitas que infectam os suínos dependem do sistema de produção utilizado, da higiene e manejo das pastagens e instalações, da política do uso de anti-parasitários nas explorações e da idade e respectiva fase de produção. Assim, leitões de duas semanas de idade são mais frequentemente atingidos por *Cystoisospora suis*, enquanto no período de recria e engorda, entre os dois e sete meses de idade, os animais são mais afectados por *Ascaris suum* e *Trichuris suis* e na fase de reprodução estão normalmente parasitados por *Oesophagostomum* spp. e *Hyostrogylus rubidus* (Kagira, Kanyari, Maingi, Ng'ang'a & Gachohi, 2012).

Estudos pioneiros sobre o conhecimento da parasitofauna do porco Ibérico foram realizados em Espanha em 1999 pela *Facultad de Veterinária de Cáceres* da UEX, onde foram analisados, através de várias metodologias, 689 suínos de engorda em montanha (aproveitamento de bolota). Os resultados gerais obtidos mostram prevalências totais de parasitismo, pelo menos por uma espécie de parasita, de 89,9%. Desse total, 17,7% dos animais apresentavam infecção apenas por uma espécie de parasita, 32,7% estavam infectados por dois géneros distintos, enquanto mais de 40% estavam parasitados por três ou mais géneros. Destaca-se a elevada prevalência de *Balantidium coli* (73,3%), se bem que na maioria dos animais não se observaram sinais clínicos de doença. Entre os nemátodes, o mais prevalente foi *Ascaris suum* (28,7%), seguido de *Metastrongylus* spp. (24%) e *Oesophagostomum dentatum* (11,8%) (García Vallejo, 1999).

Deste modo, surgiu a importância em contribuir para o conhecimento do *status* sanitário do porco Ibérico, raça também presente em Portugal, conhecida como porco preto alentejano, e também devido ao facto, referido anteriormente, de que Portugal é um dos países da UE comprador dos seus produtos. Assim, é realmente interessante conhecer as prevalências actuais dos parasitas do porco Ibérico, quer zoonóticos, pela sua importância em Saúde Pública, quer não zoonóticos, pela sua importância em Sanidade Animal, e desta forma tentar perceber a evolução das prevalências desde o último estudo homólogo de 1999, realizado sob condições ecológicas semelhantes à da presente investigação.

Para além do conhecimento da parasitofauna do porco Ibérico, é também do nosso interesse conhecer os factores de risco que podem influenciar e justificar os resultados encontrados, bem como ajudar na caracterização do sector suíno ibérico na *Extremadura*; isto porque, a ocorrência de parasitas em suínos e outros animais tem sido associada a diversos factores de risco que podem ser classificados como relativos ao parasita (epidemiologia das diferentes espécies), ao hospedeiro (resistência, idade, sexo) e factores relacionados com o ambiente (clima, densidade animal e gestão) (Tamboura, Banga-Mboko, Youssao, Traore, Bayala & Dembele, 2006). Os factores ambientais afectam significativamente as nematodoses em suínos criados em regime extensivo e a importância destes parasitas podem variar entre localizações geográficas, dependendo das condições climáticas locais predominantes. Por outro lado, as características de alojamento têm sido associadas com a ocorrência de parasitas, onde alguns grupos de suínos têm cargas mais elevadas que outros (Tamboura *et al.*, 2006; Kagira *et al.*, 2012).

Relativamente aos parasitas não zoonóticos que afectam os suínos, concretamente, o porco Ibérico, e de uma forma geral, os helmintes, têm recebido pouca atenção por parte dos Médicos Veterinários parasitologistas, apesar da presença de *A. suum*, *T. suis* e *Oesophagostomum* spp. ser comum em todo o mundo. Actualmente, os helmintes com ciclo de vida indirecto são pouco comuns nos suínos europeus de produção extensiva e as infecções causadas por *Oesophagostomum* spp. parecem não ser graves, provavelmente porque as larvas de vida livre

sobrevivem mal durante os Verões quentes e secos do Sul da Europa e durante os Invernos frios do Norte do continente Europeu. Por outro lado, *A. suum* e *T. suis* são transmitidos por ovos de longa durabilidade e altamente resistentes aos factores ambientais. A longevidade dos ovos destas duas espécies de parasitas é um grande desafio para a produção de suínos ao ar livre; um programa de rotação de pastagens de 2-3 anos pode não ser benéfico uma vez que o poder de infecção observado aumenta nos primeiros 2-3 anos após a deposição de ovos (Roepstorff, Mejer, Nejsun & Thamsborg, 2011).

Quanto aos parasitas zoonóticos, Macpherson (2005) refere que o comportamento humano tem um papel fundamental na epidemiologia das zoonoses parasitárias emergentes ou re-emergentes; isto porque as mudanças demográficas e as alterações no meio ambiente, clima, tecnologia, uso da terra e mudanças no comportamento humano, favorecem o surgimento e propagação de zoonoses parasitárias, bem como os recentes movimentos das pessoas, dos seus animais e dos seus parasitas pelo mundo, o que faz com que se introduzam e misturem genes, preferências culturais, costumes e padrões de comportamento. Os parasitas de origem alimentar podem alcançar o ser humano através do consumo de alimentos contaminados crus, como os tecidos musculares de diferentes espécies animais tais como, por exemplo, *Toxoplasma gondii*, *Sarcocystis* spp. e *Trichinella* spp., ou de produtos hortícolas, como a *Fasciola hepatica*, e de recursos de água e alimentos contaminados, tais como, por exemplo, *T. gondii* e *Echinococcus* spp. (Pozio, 2008).

É neste contexto que se torna oportuna a elaboração desta dissertação, com uma revisão bibliográfica relativa a alguns aspectos da raça ibérica, bem como dos parasitas encontrados no projecto de investigação, a descrição dos métodos utilizados para o seu diagnóstico, seguido dos resultados e sua discussão, as conclusões e bibliografia consultada.

### **3. Revisão bibliográfica**

#### **3.1. Porco Ibérico**

##### **3.1.1. Apresentação da raça**

O porco Ibérico tem na sua origem a interação do porco tipo mediterrâneo, que surge do tronco primitivo *Sus mediterraneus*, com o ecossistema de bosque mediterrâneo peninsular. Durante muitos anos foi o sector pecuário mais importante nestas zonas e baseava-se, fundamentalmente, no aproveitamento dos produtos que oferecia o meio ambiente. Estas zonas correspondem, essencialmente, à região *Extremeña*, ao Algarve e Alentejo português, à Andaluzia Ocidental e à província de Salamanca. Os exemplares desta raça destacam-se por terem muito tecido adiposo, têm uma grande capacidade anabólica e adipogénica de evolução tardia, uma grande rusticidade e um poder acomodativo muito alto (Aparicio, 1960). O peso e crescimento são muito influenciados pelo sistema de exploração e nutricional. A ninhada tende a ser variável, entre 5 e 7 leitões por parto, mas registaram-se em algumas explorações médias superiores. Em relação

ao período inter-parto, a fêmea do porco Ibérico pode ter dois partos anuais, ostentando um bom instinto maternal (Sotillo & Serrano, 1985). O rendimento de carne é muito variável segundo o sistema de exploração a que são submetidos, contudo, suínos entre 12 e 14 meses, quando terminam a montanha e com cerca de 140 kg, o rendimento da carcaça é de cerca de 83% (Sotillo & Serrano, 1985). A exploração desta raça de suínos está direccionada para a obtenção de produtos de alta qualidade e preço e sobrevive às modernas técnicas de produção suína (Ruiz, 1993). Com o objectivo de alcançar melhorias em distintos parâmetros produtivos, o porco Ibérico é cruzado com outras raças, nomeadamente com *Duroc* (Aparicio, 1987). Esta raça introduz importantes vantagens ao tronco ibérico: maior prolificidade, melhor índice de transformação, maior rendimento de carcaça e maior peso dos presuntos (Sotillo & Serrano, 1985), pelo que se estendeu o seu emprego até ao momento e a maioria dos suínos sacrificados pertence ao cruzamento de Ibérico x *Duroc* (50-75% Ibérico).

### **3.1.2. Definições**

Seguidamente, serão definidos, segundo o Real Decreto 1469/2007, de 2 de Novembro, no qual se aprova a norma de qualidade para a carne, o presunto, a paleta e o lombo ibéricos, alguns termos utilizados ao longo desta dissertação para facilitar a sua compreensão. Entende-se por lote de exploração, o conjunto de animais pertencentes a uma mesma exploração pecuária e homogéneos relativamente ao factor racial e à idade, sendo a homogeneidade do factor idade, a respeitante àqueles animais que tenham uma diferença de idade inferior a trinta dias. Um lote de alimentação é o conjunto de animais, que se encontram na mesma exploração pecuária, homogéneos quanto ao factor racial e alimentação. Assim, ao longo deste trabalho, quando falamos de lotes de idades ou grupos de produção (reprodutores, engorda, recria e cria), estamos a referir-nos a um destes dois termos definidos anteriormente. A carcaça é o corpo de um suíno adulto sacrificado, sangrado e eviscerado, inteiro ou partido longitudinalmente pela metade, sem língua, cerdas, órgãos genitais, gordura, rins e diafragma. Um lote de sacrifício é o conjunto de animais pertencentes ao mesmo lote de alimentação, sacrificados no mesmo dia e no mesmo estabelecimento, cumprindo a idade mínima de sacrifício.

Quanto à designação racial, um suíno é ibérico puro quando o produto ou a peça é obtida de progenitores, a mãe e o pai, que são reprodutores ibéricos puros, e que segundo a Directiva 88/661, de 19 de Dezembro, relativa às normas zootécnicas aplicáveis aos animais reprodutores da espécie suína, é todo o animal da espécie suína cujos pais e avós estejam inscritos ou registados no livro genealógico da mesma raça e que esteja ele mesmo inscrito e registado ou com a possibilidade de ser inscrito. Por outro lado, um suíno é ibérico quando o produto se obtenha a partir de animais procedentes do cruzamento de suínos reprodutores, sendo estes os



machos e fêmeas que não estando inscritos no livro genealógico para a raça suína ibérica reúnam os seguintes requisitos:

a) Estar identificado individualmente;

b) Que se tenha verificado e documentado o cumprimento do protótipo racial descrito no Anexo 4, com uma qualificação morfológica de apto.

Aceitam-se como machos reprodutores:

a) Macho reprodutor *Duroc* puro entendendo-se por tal aquele que estiver inscrito no livro genealógico para a raça suína *Duroc* gerido por uma organização ou associação de criadores reconhecida oficialmente para essa raça conforme a Directiva 88/661, de 19 de Dezembro; ou seja, deve estar inscrito no livro genealógico, que é todo o livro, ficheiro ou suporte informático de uma associação de agricultores oficialmente autorizada pelo Estado membro na qual esteja estabelecida essa associação, ou de um serviço oficial do Estado membro em questão; contudo, os Estados membros também poderão estabelecer que esse livro seja gerido por uma organização de criadores oficialmente autorizada pelo Estado membro na qual esteja estabelecida essa organização e, por último, no qual estejam inscritos reprodutores suínos híbridos e sejam mencionados os ascendentes deles.

b) Macho reprodutor *Duroc* entendendo-se por tal aquele que não estando inscrito no livro genealógico para a raça suína *Duroc* reúna os seguintes requisitos:

1) Estar identificado individualmente;

2) Que se tenha verificado e documentado o cumprimento do protótipo racial descrito no Anexo 5, com uma qualificação morfológica de apto.

c) Macho reprodutor procedente do cruzamento de mãe Ibérica ou ibérica pura, definida anteriormente, e de pai *Duroc* ou *Duroc* puro, descrito nas alíneas a e b.

Desde o começo da sua história, que o desenvolvimento do porco Ibérico foi distinguido pelo seu manejo através de um sistema extensivo (Laguna, 1998). Actualmente, estima-se que 15% do porco Ibérico em Espanha é produzido sob condições extensivas e 85% em condições de confinamento baseada em rações comerciais (González Sánchez, 2012). Conforme o Decreto 158/1999, de 14 de Setembro, as explorações suínas podem ser classificadas segundo o sistema de exploração. Deste modo, as explorações extensivas são aquelas em que os sistemas de produção suína contam com recursos naturais adequados para o seu aproveitamento pelo suíno, fundamentalmente em regime de pastoreio em áreas do ecossistema de *dehesa* (montado) e organizado racionalmente. Incluem-se neste grupo as explorações de engorda em montanha. As intensivas são aquelas em que os suínos estão alojados nas mesmas instalações nas quais se administra a alimentação, fundamentalmente à base de ração composta. Por último, as semi-extensivas são o resultado da coexistência do regime de exploração extensivo e intensivo.



### 3.1.3. Fases e sistemas de produção

O manejo da exploração compreende, segundo Diéguez (1992), as fases de cria, recria e engorda. A fase de cria compreende o período entre o nascimento até ao desmame, numa primeira fase, e desde o desmame até aos 23-25 kg (aproximadamente duas arrobas); a alimentação é láctea na primeira fase e com concentrados na segunda; nos sistemas mais extensivos o desmame pode ser alargado até às oito semanas e nos mais intensivos reduz-se a 3-4 semanas; o leitão a partir dos 15-20 dias começa a ser suplementado com quantidades crescentes de ração com alto valor proteico, desde os 100 g/d (grama por dia) até cerca de 1 kg no final do período de desmame (González Sánchez, 2012). A fase de recria dura até aos 95-105 kg (cerca de 8-9 arrobas); neste período, os suínos passam por duas fases, a de marrano, dos 16 kg ou 2 meses de vida até aos 50 kg ou 5 meses e a fase de primal, dos 50 kg até aos 100 kg (González Sánchez, 2012). A premontanheira tem como objectivo conseguir animais com um óptimo crescimento corporal que lhes permita desenvolver-se correctamente na montanheira e alcançar o peso pretendido ao sacrifício; em função da quantidade e tendo como objectivo alcançar o peso de entrada na montanheira, os suínos são suplementados em maior ou menor quantidade com ração; é cada vez mais comum que o produtor complete a fase de marrano com bastante alimento, já que é a chave para conseguir um crescimento adequado e imprescindível para que se consiga um produto final de qualidade; por outro lado, na fase de primal, os suínos são alimentados com uma ração de manutenção, procurando conseguir o estiramento do animal que juntamente com um adequado exercício, dará lugar a um suíno com as características pretendidas para a entrada em montanheira (González Sánchez, 2012). A alimentação na fase de montanheira será descrita mais adiante nesta dissertação; de forma geral, a pastagem do Outono, juntamente com a bolota, supõe a base da dieta do porco Ibérico nesta etapa (González Sánchez, 2012). A fêmea reprodutora alcança a puberdade aos 8-10 meses. Os varrascos têm uma vida útil de 4 ou 5 anos, momento em que se procede à castração e engorda. Existem basicamente três modalidades de cria de porco Ibérico: o sistema *camping*, o sistema funcional e o sistema moderno. O sistema *camping* é semelhante ao semiextensivo de origem inglesa, utilizando cabanas de chapa galvanizada, dispostas em cercas. O sistema funcional tem alojamentos, tipo boxes, desenhados no interior de uma instalação e tem também pequenos pocilgas no exterior para o recreio dos leitões nascidos. Em ambos os sistemas as fêmeas reprodutoras estão dispostas em dois grupos, que alternam cobrições e partos ao longo do ano. A época de partos determina o destino da cria nascida. Cada três meses, aproximadamente, tem lugar um parto (Tabela 1), tendendo a concentrar-se três deles procurando como destino final o acabamento em montanheira.

Tabela 1. Distribuição dos partos e idade de abate nas explorações de porco Ibérico.

<b>Parto</b>	<b>Sacrifício</b>	<b>Idade (meses)</b>
<b>Dezembro - Janeiro</b>	Janeiro - Fevereiro	13-14
<b>Março - Abril</b>	Janeiro - Fevereiro	11-12
<b>Junho - Julho</b>	Dezembro - Janeiro	17-18
<b>Setembro - Outubro</b>	Dezembro - Janeiro	15-16

E por último, o sistema moderno com estabulação permanente das reprodutoras, utilização da prática de inseminação artificial, desmames precoces, etc., o que se assemelha ao sistema de produção do porco branco. Escribano & Pulido (1998) observam que nos sistemas de pastoreio, podem-se encontrar fases em simultâneo numa mesma exploração, ou por outro lado, encontrar explorações que praticam só períodos de cria, recria e montanha. Existem também explorações com reprodutores de ciclo único, onde parte dos efectivos destinados a engorda serão ocasionalmente reprodutores, proporcionando uma ninhada, cujos indivíduos serão reprodutores antes da montanha seguinte. Nestes casos, a idade jovem dos reprodutores origina uma importante descida da fertilidade e prolificidade da ninhada.

### 3.1.4. Gestão do porco Ibérico

O porco Ibérico, como raça autóctone que é, dispõe de grande adaptação à *dehesa*. Segundo o Real Decreto 1469/2007, de 2 de Novembro, a *dehesa* é a área geográfica com predomínio de um sistema agroflorestal de uso e gestão da terra baseado, principalmente, na exploração pecuária em regime extensivo de uma superfície contínua de pastagens e florestas mediterrâneas, ocupada fundamentalmente por espécies arbóreas do género *Quercus*, na qual se manifesta a acção do Homem na sua conservação e sustentabilidade, e com, pelo menos, 10 árvores por hectare nesse tipo de produção. A alimentação dos animais estudados, no final do seu ciclo de produção, baseia-se, fundamentalmente, na montanha, sendo este um regime de alimentação assente no aproveitamento da bolota e dos recursos próprios da *dehesa* (Real Decreto 1469/2007); contudo, na época em que não há suficientes nutrientes por este sistema, os animais são suplementados com ração composta de origem industrial ou grão de cereal. Alguns estudos evidenciam a importância da pastagem na alimentação do porco Ibérico, uma vez que, segundo Arce *et al.*, (2009) a pastagem supõe 29% do alimento ingerido durante a montanha e a bolota 70%. Ainda que, de acordo com Tejerina, García-Torres, De Vaca, Vázquez & Cava (2012) existe uma marcada variabilidade entre os anos, afectando a composição em antioxidantes e ácidos gordos das pastagens que, por sua vez, condicionam a composição destes no animal. A sobrevivência deste tipo de pasto mediterrâneo está muito relacionada com o aproveitamento deste pelos suínos explorados extensivamente. Segundo o Decreto 158/1999, de

14 de Setembro, modificado pelo Decreto 120/2012, de 29 de Junho, os aproveitamentos da montanha são os dedicados exclusivamente ao aproveitamento neste regime, com um número de suínos não superior a 350, sempre com uma densidade animal inferior a um suíno por hectare, nos períodos compreendidos entre 1 de Outubro e 15 de Abril, em superfícies dadas de alta conforme a Ordem de 23 de Setembro de 2011 ou o ordenamento que no seu momento a substitua sobre a identificação de parcelas e recintos de *dehesa* requerida pelo Real Decreto 1469/2007, de 2 de Novembro. Os suínos, à entrada, devem ter o peso requerido por esta norma de qualidade (entre 92 e 115 kg) e ser alimentados de modo que à saída os seus produtos possam ser designados como de bolota ou terminados em montanha (Anexo 6). De um modo geral, os suínos alimentam-se de bolota, pastos, restolho, folhas de azinheira, etc. A alimentação nos primeiros meses de vida dos leitões deve ser rica em proteínas, pobre em gorduras e com minerais e vitaminas que dêem lugar a um máximo crescimento do esqueleto e musculatura. A voracidade do suíno e a sua qualidade de omnívoro, permite-lhe procurar os alimentos que mais lhe agradam, incluindo insectos, pequenos roedores, restos de cadáveres de outras espécies o que possibilita uma certa predisposição para a infecção por parasitas. Uma forma habitual de realizar a montanha é através da divisão do terreno em cercas e seu aproveitamento. Normalmente, começa-se pelas zonas mais afastadas das instalações de manejo, e conforme a engorda se completa, os animais têm mais dificuldades de movimentação, oferecendo-lhes as cercas mais planas, abrigadas e próximas. Assim, a quantidade de bolota existente e a previsível época de maturação orientam o ciclo produtivo do porco Ibérico. Deste modo, planifica-se a alimentação para conseguir que no início da montanha, os suínos sejam capazes fisiologicamente de aproveitá-la de forma eficaz, ou seja, que tenham um bom desenvolvimento do aparelho digestivo, boa capacidade locomotora, e a menor gordura possível (Espárrago Carande, 1999). O êxito de toda a exploração de porco Ibérico depende principalmente de vários factores como: o número de leitões produzidos por porca e ano (manejo, sanidade e genética); a máxima produção de leite por parto; o peso óptimo dos leitões ao nascimento e a manutenção de uma prolificidade e fertilidade máxima durante o maior número de anos e partos possíveis (Espárrago Carande, 1999).

### **3.1.5. Interação porco Ibérico - javali**

No Sudoeste de Espanha, dão-se, entre outras, duas actividades de aproveitamento de terreno do seu ecossistema que devem ser compatíveis: a caça e a pecuária. Tanto o porco Ibérico como o javali partilham os mesmos habitats e interagem entre si. Assim, o conhecimento da situação sanitária das populações de javali é vital para estabelecer programas preventivos e obter êxito nas medidas de controlo sanitário das explorações extensivas de suínos. Através da análise de javalis ao longo de algumas temporadas de caça, Calero Bernal, Gamito Santos, Frontera Carrión, García & Pérez Martín (2008) observaram a presença de um elevado número de

parasitas de grande importância em Sanidade Animal e em Saúde Pública, concluindo que é de extrema importância e necessidade a criação de um plano integral que permita a gestão da conservação da caça e a sua coexistência com as explorações de porcos em extensivo, especialmente o porco Ibérico.

Desde há alguns anos, na Unidade de Parasitologia da *Facultad de Veterinária* de Cáceres da UEX, têm sido investigados os parasitas que afectam tanto o porco Ibérico como o javali. Realizaram-se importantes estudos sobre triquinelose, ascariose, metastrongilose, toxoplasmose e outros endoparasitas dos suínos. O javali, como suíno silvestre, tende a estar parasitado pelos mesmos agentes que os suínos domésticos e vice-versa; portanto, coloca-se a hipótese de que o javali possa servir de elemento propagador de formas de disseminação de parasitas em torno das explorações de porco Ibérico. Por outro lado, é bem conhecida a presença de agentes parasitários de carácter zoonótico no javali. O de maior significado social tem sido a *Trichinella* spp., para o qual existe uma normativa específica para o seu controlo (Regulamento CE 2075/2005). Contudo, existem outros, como *T. gondii* e *Sarcocystis miescheriana* ou *S. suis*, que podem provocar infecção clínica patente em humanos pelo consumo de carnes pouco cozinhadas ou produtos cárneos crus ou curados infectados.

Nos sistemas de produção extensivos, é muito comum a interacção entre o gado e as espécies silvestres. No caso do javali, o seu comportamento e biologia, tão similar ao porco Ibérico, faz com que devam prestar-lhe grande atenção desde o ponto de vista sanitário e económico (gastos derivados de mortes e tratamentos, declínio de produção, etc.).

É neste contexto que parte deste trabalho está direccionado para o conhecimento da parasitofauna dos javalis de alguns municípios da *Extremadura* no seguimento da linha de investigação já iniciada na Unidade de Parasitologia da *Facultad de Veterinária* de Cáceres da UEX.

### **3.1.6. O porco Ibérico no Sudoeste peninsular**

Segundo Bermejo (1992, 1995), esta raça está localizada num território compreendido entre o Maciço Central da Península Ibérica e a depressão de Guadalquivir, agrupando actualmente as regiões de *Castilla-León* (com uma superfície de 174 000 ha, no sudoeste da mesma), *Extremadura* (com 1 milhão de ha), Oeste de *Castilla-La Mancha* (316 000 ha) e *Andalucía* (1 milhão de ha). Estas superfícies, ao longo do presente século tiveram tendência a diminuir, devido a vários factores, mas principalmente pelo furor arborícola do Homem. Para Diéguez (1992), esta raça localiza-se em áreas próximas ao litoral, distribuindo-se para sudoeste e ocupando as zonas nas quais predominam, como massa arbórea, as azinheiras, os sobreiros, os carvalhos e a alfarrobeira. São as regiões da *Andalucía* Ocidental, *Extremadura* e Salamanca em Espanha, assim como o Algarve e Alentejo português. Actualmente, a criação de porco Ibérico,

segue ligada às regiões do sudoeste espanhol, correspondente ao oeste de uma linha imaginária traçada desde *Almería* até Zamora, e com uma distribuição mostrada na Tabela 2.

Tabela 2. Distribuição do porco Ibérico em Espanha, por província (%). (Benito *et al.*, 1997)

Província	%
Badajoz	40
Cáceres	10
Córdoba	12
Sevilha	10
Huelva	8
Cádiz	7
Salamanca	7
Málaga	3
Outras: Ávila, Segóvia, Toledo e <i>Ciudad Real</i>	3

Para Benito, Menaya, Vázquez, García & Ferrera (1997), dentro desta distribuição, existem zonas principalmente produtoras e outras dedicadas fundamentalmente à transformação e elaboração, tanto de produtos frescos como curados. A maior parte da produção de gado coincide com as áreas de elevada densidade de azinheiras e sobreiros. Assim, na região da *Extremadura* situa-se 50% do total da produção e 8, 10 e 12% nas províncias de Huelva, Sevilha e Córdoba, respectivamente.

## 3.2. Parasitas não zoonóticos do porco Ibérico

### 3.2.1. Família Eimeriidae

#### 3.2.1.1. Etiologia

São protozoários intracelulares, pequenos, situados nas células epiteliais da parede intestinal. A Família Eimeriidae inclui os géneros *Eimeria* e *Cystoisospora*. Nos suínos, as espécies mais importantes são *Eimeria deblickei*, *E. polita*, *E. scabra*, *E. spinosa*, *E. porci*, *E. neodeblickei*, *E. perminuta*, *E. suis* e *Cystoisospora suis*. Cada espécie apresenta características morfológicas próprias que permitem a sua identificação. Os oocistos esporulados são constituídos por: uma parede composta por 3 membranas; o micrópilo, típico do género *Eimeria* mas que não existe em todas as espécies; o opérculo, sendo que há espécies que apresentam micrópilo mas sem opérculo; o corpo residual do oocisto; os grânulos polares, que nem sempre estão presentes; os esporocistos, dentro dos quais pode distinguir-se o corpo de *Stieda*, o corpo residual do esporocisto e os esporozoitos (Frontera Carrión *et al.*, 2009c).

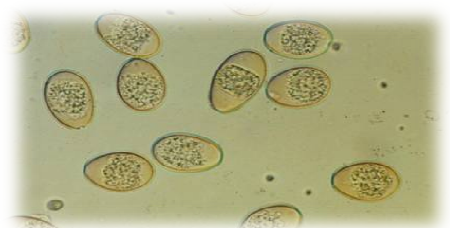


Figura 1: Oocistos não esporulados da Família Eimeriidae. Ampliação total de 4500x.

(Fotografia gentilmente cedida pelo Departamento de Sanidade Animal, Unidade de Parasitologia da FVC da UEX)

### 3.2.1.2. Ciclo Biológico e Epidemiológico

O ciclo de vida dos parasitas pertencentes à Família Eimeriidae divide-se em 3 fases: a esporogonia, que ocorre no meio ambiente; a esquizogonia ou merogonia e a gametogonia, que ocorrem no hospedeiro (Radostitis, Gay, Hinchcliff & Constable, 2007). Destas 3 fases, as que são de reprodução assexuada são a esporogonia e a esquizogonia e a fase de reprodução sexual é a gametogonia. Os oocistos chegam ao estômago onde é produzida a libertação dos esporocistos com os esporozoítos graças à acção do CO<sub>2</sub>, sais biliares, enzimas, etc. (Radostitis *et al.*, 2007; Frontera Carrión *et al.*, 2009c). Cada esporozoíto penetra apenas um enterócito intestinal, onde adopta uma forma esférica típica, passando a designar-se trofozoíto, dando início à esquizogonia. Dependendo da espécie, esta fase produz-se em duas partes do intestino. Aí, o trofozoíto sofre divisão binária e forma uma estrutura designada esquizonte tipo I que contém no seu interior uma grande quantidade de merozoítos tipo I. Cada um dos merozoítos tipo I vai invadir novas células intestinais produzindo esquizontes tipo II com grande quantidade de merozoítos tipo II (Frontera Carrión *et al.*, 2009c). Finalmente, estes merozoítos de 2ª geração vão diferenciar-se sexualmente através da fase de gametogonia. Os merozoítos dão origem a gametócitos masculinos ou micro-gâmetas e a gametócitos femininos ou macro-gâmetas. Os gâmetas femininos são unicelulares e ocupam a quase totalidade da célula parasitada, enquanto os gâmetas masculinos sofrem cada um deles várias divisões originando uma grande quantidade de pequenas células flageladas. Os micro-gâmetas são libertados por ruptura da célula hospedeira e cada um deles penetra numa célula epitelial contendo um macro-gâmeta. Ocorre a fertilização com formação de oocistos não esporulados que são posteriormente eliminados para o exterior juntamente com as fezes, entre 6-10 dias no caso de *Eimeria* spp. e 3-5 dias no caso de *Cystoisospora suis*. Os oocistos são eliminados periodicamente com as fezes, entre 3-5 dias, coincidindo com os ritmos de reprodução sexual do parasita (Frontera Carrión *et al.*, 2009c). Como já foi referido anteriormente, o oocisto sai para o meio ambiente sem esporular e passado pouco tempo começa o processo de esporogonia, dependente de condições de temperatura, humidade e oxigenação, tornando-se assim infectantes para o hospedeiro. Assim, no caso de *Eimeria* spp. o zigoto vai diferenciar-se em 4 esporocistos com 2 esporozoítos cada um, enquanto *C. suis* terá 2 esporocistos com 4 esporozoítos cada um (Frontera Carrión *et al.*, 2009c). Relativamente ao ciclo epidemiológico, a infecção dos animais ocorre quando estes ingerem oocistos esporulados do meio ambiente, ou seja, os animais podem infectar-se por ingestão de alimentos ou água contaminada por fezes de outros animais clinicamente afectados ou portadores, ou ainda directamente por coprofagia. A doença produz-se tipicamente em animais jovens mas o parasitismo é frequente em adultos, com cargas parasitárias muito baixas que permitem o desenvolvimento de uma imunidade que mantém o equilíbrio com o parasita. Os adultos convertem-se em portadores e disseminadores do agente, o que explica a sua alta frequência. O hábito de lamberem o seu corpo, que pode estar conspurcado por fezes

contaminadas, é também uma fonte de infecção (Radostitis *et al.*, 2007; Frontera Carrión *et al.*, 2009c). Os animais, especialmente os leitões, infectam-se depois da ingestão oral de oocistos presentes no solo, através de utensílios de limpeza, comedouros, bebedouros contaminados, oocistos aderentes ao peito das mães, etc. O período de prepatencia nos animais é de uma semana, aproximadamente, e varia consoante a espécie (Radostitis *et al.*, 2007; Frontera Carrión *et al.*, 2009c). Desde esse momento, a descarga de oocistos faz-se de forma bastante contínua, já que podem voltar a infectar-se continuamente, e nem todos os esporozoítos e merozoítos do mesmo foco penetram ao mesmo tempo nas células epiteliais, nem os oocistos se libertam de forma simultânea (Frontera Carrión *et al.*, 2009c). Os oocistos apresentam uma elevada resistência nas explorações. A esporogonia, em condições óptimas de humidade elevada, oxigenação e temperaturas médias (óptimas entre 29-33°C), pode desenvolver-se em apenas 2-3 dias. Em práticas habituais de produção suína intensiva onde se proporciona calor extra aos leitões através de aquecimento ou outros sistemas (até aos 32-35°C), a esporulação pode ocorrer em 12-16 horas. À temperatura de 53°C, os oocistos são destruídos em 10 minutos, enquanto a 80°C resistem apenas 10 segundos. A água a ferver destrói-os em 5 segundos. Por outro lado, temperaturas muito baixas, de -10°C também os destroem. Os oocistos são muito sensíveis à dessecação e à luz solar directa (Frontera Carrión *et al.*, 2009c). A transmissão de *C. suis* ocorre apenas nas maternidades e a infecção dá-se de leitão para leitão (Langkjaer & Roepstorf, 2008). O ciclo de vida deste parasita difere das espécies do género *Eimeria* em dois aspectos, existem estadios extra-intestinais de esquizontes que podem ocorrer no baço, fígado e linfonodos, e os roedores podem actuar como hospedeiros paraténicos, infectando-se os suínos por ingestão de esquizontes que ocorrem nos seus tecidos (Urquhart, Duncan, Dunn & Jennings, 1996). O período de prepatencia é de cerca de 8 a 16 dias e a eliminação dos oocistos ocorre por picos, 2 a 3, separados com um intervalo de 5 dias (Radostitis *et al.*, 2007). A percentagem de leitões afectados por *Eimeria* spp. é muito menor quando comparada com a percentagem de animais desse mesmo grupo etário afectados por *C. suis*. Esta diferença pensa-se ser devida sobretudo a diferenças no ciclo de vida destes dois agentes, nomeadamente ao nível do tempo requerido para a incubação dos oocistos, que no caso de *Eimeria* spp. é muito mais longo que o de *C. suis*, cerca de 5 a 12 dias. As condições microclimáticas que favorecem a esporulação de *C. suis* podem impedir a esporulação de oocistos de *Eimeria* spp. (Karamon, Ziomko, Cencek & Sroka, 2008).

### **3.2.1.3. Situação Epidemiológica**

No passado, as coccidioses eram doenças pouco frequentes, praticamente inexistentes em animais de vida livre ou explorações extensivas. Hoje em dia esta doença está amplamente distribuída por qualquer latitude, devido à cria intensiva dos animais, ao elevado potencial biótico destes agentes e à falta de medidas higiénicas adequadas nas explorações (Frontera



Carrión *et al.*, 2009c). *C. suis* tem distribuição cosmopolita (Karamon *et al.*, 2008); e os protozoários do género *Eimeria* têm também distribuição mundial, estimando-se que 60 a 90% dos suínos sejam portadores deste parasita (Cordero del Campillo *et al.*, 2002b). O sistema de produção, as condições de manejo e o *status* higiénico de cada suinicultura têm um importante impacto na prevalência da infecção pelos diferentes parasitas da Família Eimeriidae. Estudos realizados por Karamon *et al.* (2007) demonstram que a infecção por *C. suis* é mais comum em suiniculturas de grandes dimensões, mais de 100 porcas, enquanto a infecção por *Eimeria* spp. é mais frequente em explorações de pequenas dimensões, menos de 25 porcas. Piores condições higiénicas e temperaturas sub-óptimas nas maternidades e recria de leitões, geralmente observadas nestas últimas, favorecem a ocorrência de infecções por *Eimeria* spp. Alguns autores, consideram que a prevalência de *Eimeria* spp., pode ser considerada um indicador do *status* higiénico da exploração, sendo que quanto mais baixo o nível de higiene mais frequente é a infecção por *Eimeria* spp. Animais explorados em ambientes pouco contaminados, quando expostos a coccídeos são altamente susceptíveis à doença (Radostitis *et al.*, 2007). Quanto à epidemiologia no javali e no porco doméstico, nas tabelas 3 e 4 estão enunciados dois estudos de interesse sobre a presença de protozoários da Família Eimeriidae nestes animais.

Tabela 3. Estudos de prevalência de Família Eimeriidae no javali.

País	Prevalência (%)	n	Referência
Polónia	<i>Eimeria</i> spp. 58,5	147	Pilarczyk <i>et al.</i> (2004)
Espanha	8,3	774	García-González (2010)

Tabela 4. Estudos de prevalência de Família Eimeriidae em suínos domésticos de alguns países.

País	Prevalência (%)	n	Referência
Alemanha	<i>C. suis</i> 45	20*	Damriyasa & Bauer (2006)
	<i>Eimeria</i> spp. 30		
Alemanha	<i>C. suis</i> 0,4	1427	Epe, Coati & Schnieder (2004)
	<i>Eimeria</i> spp. 0,3		
Portugal	<i>C. suis</i> 58	24*	Gião-Gomes (2009)
	<i>Eimeria</i> spp. 79		
Espanha	<i>Eimeria</i> spp. 35,3	689	García-Vallejo (1999)

\*explorações; n = suínos domésticos investigados.



#### 3.2.1.4. Diagnóstico

O quadro clínico e as lesões produzidas pela Família Eimeriidae, infelizmente, não vão ser determinantes para estabelecer um diagnóstico assertivo desta doença. Relativamente à sintomatologia, esta é semelhante a muitos outros processos entéricos de leitões, o que torna bastante difícil o diagnóstico baseado nos sinais. O sinal mais significativo é a diarreia geralmente na segunda ou terceira semana de vida, de tipo pastosa ou aquosa de cor branca ou amarelada (Radostitis *et al.*, 2007). Para além disso, é importante ter em conta que não responde à antibioterapia e as ninhadas vão ser muito diferentes com baixo peso médio ao desmame (Frontera Carrión *et al.*, 2009c). Podem ser realizados vários tipos de técnicas que oferecem um diagnóstico fiável da doença, sendo as mais utilizadas a análise coprológica, a análise histopatológica da mucosa intestinal, a técnica de autofluorescência e as técnicas de biologia molecular. A análise coprológica é um método rápido e barato, ainda que seja importante saber que não é fiável durante a fase aguda já que os sinais podem aparecer antes dos oocistos nas fezes (Radostitis *et al.*, 2007). Depois da fase aguda, a coprologia é um método muito eficaz, utilizando soluções saturadas de cloreto de sódio, glucose ou sulfato de zinco a 33% e realizando uma posterior contagem em câmara de McMaster. Uma vez diagnosticada a doença, recomenda-se a identificação concreta da espécie ou espécies participantes no processo, mediante coprocultura das amostras de fezes. Para tal, induz-se a esporulação através de temperatura, humidade e oxigénio adequado, adicionando ainda uma solução de dicromato de potássio a 2,5%, uma vez que este impede o crescimento bacteriano e fúngico, o qual pode ser letal para estes protozoários. É ainda de salientar que deverá ter-se em conta o tempo de esporulação, que varia segundo cada espécie, e as características morfológicas de cada uma delas (Frontera Carrión *et al.*, 2009c). No entanto, os métodos de flutuação usados rotineiramente apresentam uma importante limitação que pode conduzir à obtenção de resultados falsos negativos; o elevado teor de gordura nas fezes dos leitões durante o período de amamentação dificulta a observação destas fezes ao microscópio bem como a detecção de oocistos. Karamon *et al.* (2008) consideram uma resolução eficaz para este problema, utilizando uma solução que possibilite de forma eficaz a separação da fracção gorda do sedimento, da amostra de fezes; assim, uma suspensão de sílica com polovinilpirrolidona, foi usada com esse objectivo e os resultados dos estudos realizados demonstram que a centrifugação da amostra fecal juntamente com essa solução a 25% é bastante útil no diagnóstico laboratorial da isosporose neonatal em leitões. Outra técnica também utilizada é a centrifugação da mistura de fezes juntamente com ácido acético a 5% e éter etílico, e observação ao microscópio de sedimento resultante para pesquisa de oocistos (Figueiredo & Mendão, 1996). O exame de esfregaços fecais é também proposto como um método alternativo, considerando-se apenas efectivo durante as fases de eliminação maciça de oocistos (Karamon *et al.*, 2008). A técnica de autofluorescência pode ser útil para detectar oocistos em fezes com muita gordura, uma vez que

os oocistos têm capacidade autofluorescente, ou seja, são capazes de emitir luz depois de excitados pelos ultravioletas. Aproveitando essa qualidade, um método de diagnóstico eficaz seria a observação de uma amostra de fezes ao microscópio de fluorescência incidente com uma luz de 340-380 nm. Nestas condições, as paredes dos oocistos e os esporozoítos apresentariam cor azul/verde. Dauschies, Bialek, Joachim & Mundt (2001) analisaram esfregaços fecais que continham *C. suis* mediante algumas técnicas, sendo que a autofluorescência revelou-se superior na detecção de oocistos. Outros estudos tais como o de Kuhnert, Schmäscke & Dauschies (2006) demonstram que a técnica de autofluorescência é um método muito sensível e com poucas despesas de mão-de-obra. As técnicas de biologia molecular são bastante específicas mas também caras e requerem pessoal e infra-estruturas especializadas. No entanto, a diferenciação de algumas espécies pertencentes à Família Eimeriidae proporciona uma alternativa útil em relação à microscopia (Rutkowski, Joachim & Dauschies, 2001). Quanto à análise histopatológica da mucosa intestinal, a preparação de extensões de raspagem de zonas intestinais mais afectadas, ou seja, zonas onde o intestino está flácido e túrgido e apresenta um conteúdo intestinal com aspecto cremoso ou aquoso (Cordero del Campillo *et al.*, 2002b), havendo ainda espessamento e congestão da mucosa intestinal, na procura das diferentes formas parasitárias em desenvolvimento, especialmente merozoítos, é um bom método diagnóstico quando uma exploração é afectada pela primeira vez ou estamos perante a fase aguda da doença. Os cortes histológicos mostram alterações que variam em função da fase de infecção mas o mais comum é a observação de hiperplasia generalizada com infiltração celular, especialmente eosinófilos e células plasmáticas e necrose das vilosidades (Cordero del Campillo *et al.*, 2002b; Frontera Carrión *et al.*, 2009c). Relativamente ao diagnóstico diferencial, é muito importante ter em conta que suínos que sofrem de um processo intestinal que decorra com diarreia no período de lactação, podem intervir numerosos microorganismos, o que obrigará a fazer um correcto diagnóstico diferencial. De todos os processos que afectam os leitões de poucos dias de idade ou semanas de vida, os mais frequentes são os produzidos por *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens* tipo C, rotavírus e *C. suis* (Radostitis *et al.*, 2007; Frontera Carrión *et al.*, 2009c).

### **3.2.2. *Macracanthorhynchus hirudinaceus***

#### **3.2.2.1. Etiologia**

A Acanthocefalose ou Macracantorrincose é uma doença parasitária produzida por *Macracanthorhynchus hirudinaceus*. Os hospedeiros definitivos deste parasita, que habita o intestino delgado, são os suínos domésticos e os javalis e, ocasionalmente, os bovinos, os roedores, os cães, os macacos ou o Homem (Acha & Szyfres, 2003b). Os ovos têm forma oval, são embrionados e possuem uma casca exterior bastante grossa. Medem entre 80 a 100 µm de comprimento e 40 a 65 µm de largura, possuem quatro membranas, sendo a segunda cor de café

e pontuada. Uma fêmea grávida pode conter até 10 milhões de ovos embrionados (Frontera Carrión *et al.*, 2009g).

Figura 2. Ovo de *Macracanthorhynchus hirudinaceus*. Ampliação total de 1000x.

(Fotografia original)



### 3.2.2.2. Ciclo Biológico e Epidemiológico

O ciclo biológico deste parasita é indirecto. Inicia-se com a postura de ovos por parte da fêmea de *M. hirudinaceus* no intestino delgado do hospedeiro, sendo depois expelidos nas fezes destes, já embrionados, contendo o Acantor. Calcula-se que as fêmeas podem produzir por dia até 80 000 ovos. Os ovos são muito resistentes aos factores ambientais e podem sobreviver no solo durante vários anos. Os hospedeiros intermediários são as larvas de várias espécies de coleópteros coprófagos terrestres e aquáticos. Entre os dois meses e meio e os cinco meses, segundo as condições ambientais, é alcançada a fase infectante dentro dos escaravelhos, de acantela ou cistacanto. Apenas um escaravelho pode conter até 2 000 cistacantos. Os suínos domésticos ou os javalis infectam-se quando ingerem larvas ou adultos de escaravelhos portadores. Dentro do intestino delgado do suíno, a forma infectante evolui para adulto em dois ou três meses, e a longevidade destes pode superar os 10 meses no interior do hospedeiro definitivo (Acha & Szyfres, 2003b; Radostitis *et al.*, 2007). Devido ao longo ciclo de vida do agente, a parasitose observa-se especialmente em suínos de um a dois anos de idade, principalmente nos meses de Novembro a Março. A infecção depende em grande medida do número de hospedeiros intermediários da zona onde habitam os suínos, o qual é muito variável segundo as condições climáticas da região (Frontera Carrión *et al.*, 2009g).

### 3.2.2.2. Situação Epidemiológica

*M. hirudinaceus* encontra-se em suínos de todo o mundo. Quanto à epidemiologia no javali, na tabela 5 estão enunciados alguns estudos de interesse sobre a presença de *M. hirudinaceus* neste hospedeiro.

Tabela 5. Estudos de prevalência de *M. hirudinaceus* no javali em alguns países.

País	Prevalência (%)	n	Referência
Espanha	21	47	De La Muela, Hernández-de-Luján & Ferre (2001)
	9,3	717	García-González (2010)
Turquia	19	27	Senlik, Cirak, Girisgin & Akyol (2011)
Irão	41,6	12	Solaymani-Mohammadi <i>et al.</i> , (2003)

Relativamente à epidemiologia nos suínos domésticos, são poucos os estudos de prevalência encontrados na bibliografia consultada. Ainda assim, é de referir que García-Vallejo (1999) no seu trabalho de investigação sobre endoparasitas do porco Ibérico de montanha da *Extremadura*, encontrou uma prevalência de 7,5%. Esse valor foi obtido a partir de 52 animais parasitados em 689 analisados.

#### 3.2.2.4. Diagnóstico

O diagnóstico clínico é difícil de efectuar uma vez que os sinais clínicos são inespecíficos e estão ausentes na maioria dos animais infectados. Deste modo, o diagnóstico de eleição é o etiológico, através da visualização de ovos ou de adultos nas fezes. Para a observação de ovos nas fezes, recorre-se a técnicas coprológicas de flutuação e sedimentação, com soluções de alta densidade e água, respectivamente. A necrópsia é outra forma de diagnóstico directo, na qual se deve realizar o diagnóstico diferencial com *Ascaris suum* que, apesar de ter tamanho e localização semelhante, não apresenta probóscide e não está fixo à mucosa intestinal (Acha & Szyfres, 2003b; Radostitis *et al.*, 2007; Frontera Carrión *et al.*, 2009g).



Figura 3. Extremidade anterior de *Macracanthorhynchus hirudinaceus* adulto.

(Fotografia gentilmente cedida pelo Doutor José António Gamito Santos)

#### 3.2.3. Nemátodes pulmonares

##### 3.2.3.1. *Metastrongylus* spp.

###### 3.2.3.1.1. Etiologia

A Metastrongilose é uma doença parasitária das vias respiratórias profundas que ocorre com uma síndrome de broncopneumonia nos suínos domésticos e no javali causada por Nemátodes pertencentes ao género *Metastrongylus*. É também conhecida como broncopneumonia verminosa ou estrongilose respiratória. Trata-se, eminentemente, de uma parasitose própria de porcos explorados em regime extensivo ou semiextensivo. O género *Metastrongylus* é o único componente da família *Metastrongylidae*. O parasita costuma medir entre 1-5 cm, com cápsula bucal muito pequena e lábios trilobulados (figura 4).



Figura 4. Extremidade anterior de *Metastrongylus* spp.

(Fotografia gentilmente cedida pelo departamento de Parasitologia da FVC-UEX)

O facto de apresentar o orifício genital no final do corpo, confere ao útero um tamanho excepcional nas fêmeas adultas. Este fenómeno relaciona-se com a adaptação que tem sofrido esta espécie para produzir ovos no meio ambiente (Kolevatova, 1976 citado por García-González, 2010). Os ovos deste género têm larvas quando são expulsos pela fêmea (L1), e apresentam uma parede algo grossa e rugosa medindo aproximadamente 43-57 x 38-45 µm. As espécies constituintes do género *Metastrongylus* são parasitas cosmopolitas. Até hoje descreveram-se seis espécies diferentes, quatro delas foram identificadas na Europa: *Metastrongylus apri*, *M. pudendotectus*, *M. salmi* e *M. confusus*.

Na tabela 6, são apresentadas as principais características morfológicas que permitem distinguir as espécies *M. apri*, *M. pudendotectus* e *M. salmi*. Todas elas têm como hospedeiro definitivo o suíno doméstico e o javali e como habitat a traqueia, brônquios e bronquíolos.

Tabela 6. Principais características morfológicas de *M. apri*, *M. pudendotectus* e *M. salmi*.

Género	<i>M. apri</i>	<i>M. pudendotectus</i>	<i>M. salmi</i>
Macho adulto	11-26 mm de comprimento; Cone genital bem desenvolvido; Não possui gubernáculo; Espículas filiformes de 3,9-5,5 mm de comprimento, terminando em forma de gancho.	14-19 mm de comprimento; Cone genital pouco desenvolvido; Apresenta gubernáculo; Bolsa copuladora curvada ventralmente; Espículas medem 1,2-1,6 mm, terminando em gancho duplo, em forma de âncora.	14-18 mm de comprimento; Espículas menores que as de <i>M. apri</i> , terminando em gancho simples.
Fêmea adulta	28-60 mm de comprimento; Vulva posterior; Protuberância prévilvar é de tamanho médio em forma de dedo de galinha.	19-40 mm de comprimento; Protuberância prévilvar subesférica com cutícula transparente bastante proeminente que envolve a provagina.	30-40 mm de comprimento; Vulva próxima do extremo posterior; Protuberância prévilvar de tamanho médio ou reduzido.

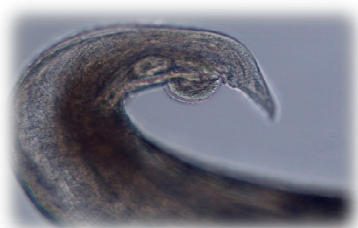


Figura 5. Extremidade posterior de fêmea de *Metastrongylus salmi*. Ampliação total de 2x.

(Fotografia gentilmente cedida pelo departamento de Parasitologia da FVC-UEX)



Figura 6. Extremidade posterior de fêmea de *Metastrongylus apri*. Ampliação total de 2x.

(Fotografia gentilmente cedida pelo departamento de Parasitologia da FVC-UEX)



Figura 7. Extremidade posterior de fêmea de *Metastrongylus pudendotectus*. Ampliação total de 2x.

(Fotografia original)

### 3.2.3.1.2. Ciclo Biológico e Epidemiológico

Quanto ao ciclo biológico, como já foi mencionado anteriormente, *Metastrongylus* spp. afecta principalmente os suínos domésticos e espécies afins de vida silvestre, como o javali (*Sus scrofa*). Trata-se de um ciclo indirecto que inclui um hospedeiro intermediário, a minhoca (*Lumbricus terrestris*), e outro definitivo, suíno doméstico ou javali.



Figura 8. Minhocas. Hospedeiro intermediário no ciclo biológico de *Metastrongylus* spp.

(Fotografia gentilmente cedida pelo departamento de Parasitologia da FVC-UEX)

Os ovos embrionados postos pelas fêmeas adultas em localizações bronco-pulmonares são expulsos do pulmão, expectorados e deglutidos, passam pelo aparelho digestivo e, por último, são eliminados nas fezes.

Figura 9. Ovo contendo larva no 1º estadio *Metastrongylus* spp. Ampliação total de 400x.

(Fotografia gentilmente cedida pelo departamento de Parasitologia da FVC-UEX)





A eliminação dos ovos aumenta com a idade dos animais, alcançando o máximo entre a 5<sup>a</sup>-9<sup>a</sup> semana pós-infecção para diminuir posteriormente (Hidalgo Argüello, Cordero del Campillo & Díez Baños, 1999). Os ovos embrionados podem sobreviver no meio ambiente durante longos períodos de tempo dependendo das condições ambientais; em temperaturas frias e ambientes húmidos, são muito resistentes e podem sobreviver até dois anos, porém a dessecação e a luz solar directa destroem a sua vitalidade (Rose, 1959 citada por García-González, 2010). Para a sua posterior evolução requerem a intervenção de um H.I., a minhoca. Uma vez que os ovos contendo larvas são ingeridos pelas minhocas, as L1 emergem do ovo no intestino e acumulam-se no coração, artéria dorsal, parte anterior do intestino e esófago até alcançarem o terceiro estado larvar (Probert, 1969 citado por García-González, 2010). A longevidade das larvas descritas é semelhante à dos anelídeos, podendo chegar até aos sete anos. Os suínos infectam-se por ingestão de minhocas infectadas, se bem que as L3, por morte do hospedeiro intermediário, podem sobreviver no meio ambiente até duas semanas, permitindo também o contágio directo quando o H.D. fossa o terreno. Os terrenos ricos em húmus e húmidos são favoráveis para as minhocas e para o contágio. As L3 libertam-se no intestino do H.D., penetram a sua parede e passam para os espaços linfáticos e linfonodos onde tem lugar a terceira muda. As L4 passam ao ducto torácico e sistema venoso, chegando ao coração e pulmões. Aos cinco dias pós-infecção ocorre a muda final na traqueia, brônquios e bronquíolos para finalmente alcançar a maturação sexual passados 24 dias (Cheng, 1976; Quiroz, 1984; citados por García-González, 2010). A longevidade dos vermes pulmonares nos suínos é desconhecida. A maioria dos Nemátodes são expulsos durante as primeiras semanas depois da infecção, mas um pequeno número pode persistir durante muito tempo. A resistência imunitária adquirida ao longo da vida é efectiva para limitar ou reduzir a população de adultos no pulmão. As infecções massivas são raras, excepto em animais com menos de seis meses, submetidos a situações de stress, em casos de avitaminose A, em associações com outras parasitoses (ascariose) ou em infecções bacterianas ou virais (Euzéby, 1975 citado por García-González, 2010). Segundo Ewing e Todd em 1961, citados por Alcaide (2005) as infecções mistas entre *M. apri* e *M. pudendotectus* podem ter um efeito sinérgico na sobrevivência dos adultos e a maturação deles ser acelerada em infecções mistas. Arambulo *et al.* em 1905 citados por Alcaide (2005) descreveram a espécie humana como hospedeiro paraténico de *Metastrongylus* spp. São alguns os casos citados de bronquite verminosa em humanos, inclusive alguns deles com finais trágicos, como o descrito por González Castro em 1951, em Espanha, numa criança de seis anos que morreu por asfixia (Gião Gomes, 2009). Relativamente ao ciclo epidemiológico, são vários os factores epidemiológicos que podem predispor à presença de Nemátodes pulmonares no porco doméstico e no javali, estando resumidos na tabela 7.

Tabela 7. Resumo dos factores que favorecem a presença da Metastrongilose.

Factores epidemiológicos intrínsecos do parasita	Espécie; Capacidade de adaptação ao hospedeiro definitivo; Capacidade de adaptação ao meio ambiente.
Factores epidemiológicos intrínsecos do hospedeiro intermediário (H.I)	Espécie; Capacidade de albergar as larvas do parasita; Distribuição e densidade no meio.
Factores epidemiológicos intrínsecos do hospedeiro definitivo (H.D)	Espécie; Raça e cruzamentos; Idade; Sexo; Estado biopatológico e imunológico; Nutrição.
Factores epidemiológicos extrínsecos	Tipo de clima e ecossistema; Época do ano.

### 3.2.3.1.3. Situação Epidemiológica

As distintas espécies do género *Metastrongylus* constituem um dos parasitas mais importantes em suínos, devido à sua elevada prevalência. A Metastrongilose é considerada a segunda helmintose mais importante, depois da ascariose, a nível mundial. Em alguns países a importância desta doença parasitária diminuiu como consequência de um alto nível industrial e implantação de explorações em regime intensivo (Nansen & Roepstorff, 1999). Alguns autores (Carstensen *et al.*, 2002) dizem que a implementação de sistemas de produção ecológicos na UE implica um risco de reintrodução de parasitas como *Metastrongylus* spp. Os estudos epidemiológicos sobre esta parasitose determinam altas prevalências. Na tabela 8 estão representados alguns dados de prevalência relativos a *Metastrongylus* spp..

Tabela 8. Dados publicados sobre prevalência de *Metastrongylus* spp. em alguns países da Europa.

País	Hospedeiro	Espécie parasita	Prevalência (%)	Diagnóstico	Referência
Alemanha	Javalis	<i>M. apri</i>	88,7	Exame directo de pulmão	Barutzki <i>et al.</i> (1990)
		<i>M. pudendotectus</i>	88,1		
		<i>M. salmi</i>	91,9		
Estónia	Javalis	<i>M. apri</i>	41	Exame directo de pulmão	Järvis <i>et al.</i> (2007)
		<i>M. pudendotectus</i>	78		
		<i>M. salmi</i>	77		
Portugal	Porco doméstico	<i>Metastrongylus</i> spp.	29	Flutuação e sedimentação	Gião-Gomes (2009)
	Javalis	<i>M. apri</i> e <i>M. salmi</i>	42	Exame directo de pulmão	Bruno de Sousa <i>et al.</i> (2004)
Espanha	Javalis	<i>Metastrongylus</i> spp.	41,1	Exame directo de pulmão	García-González (2010)
	Porco doméstico		24		García-Vallejo (1999)



#### 3.2.3.1.4. Diagnóstico

O diagnóstico clínico é presuntivo ou orientativo e nunca definitivo; baseia-se fundamentalmente na observação de sinais clínicos dos animais *in vivo*; é complicado de realizar devido ao facto da maioria das infecções serem leves ou assintomáticas. Nas infecções intensas, a tosse é o sinal mais característico, sendo esta seca e paroxística, e que se manifesta durante um período aproximado de 10 dias. Também se observa dispneia, taquipneia, respiração abdominal, secreções nasais mucosas ou mucopurulentas. Quando a doença avança, observam-se tremores, problemas intestinais, diminuição do apetite com consequente perda de peso e atraso no crescimento. Para uma maior fiabilidade, deve ter-se em conta alguns factores como a sazonalidade da doença, a necessidade de hospedeiros intermediários infectados e o livre acesso a eles e a história epidemiológica da zona. É ainda necessário estabelecer um diagnóstico diferencial com outras doenças causadoras do mesmo quadro clínico. A análise coprológica serve para detectar a presença de ovos nas fezes dos animais parasitados, tendo em consideração a sazonalidade e intensidade da expulsão destes elementos de disseminação. O estudo anatomopatológico consiste na demonstração da presença de parasitas na traqueia, brônquios e/ou bronquíolos dos animais durante a necrópsia. As lesões macroscópicas mais características nas infecções por *Metastrongylus* spp., segundo Whittlestone, 1957 e Mackenzie, 1958 citados por García-González (2010) são: áreas enfisematosas bem definidas e localizadas principalmente nos lobos diafragmáticos, obstrução parcial dos brônquios devido à presença de muco e parasitas adultos, áreas de consolidação na região anteroventral dos lóbulos diafragmáticos e pequenas lesões nodulares. O diagnóstico imunológico baseia-se na comprovação da presença ou ausência de anticorpos específicos frente ao parasita. Tem escassa aplicabilidade como ferramenta de diagnóstico. As técnicas mais utilizadas são: ELISA, IFI e hemaglutinação indirecta.

#### 3.2.4. Nemátodes gastrointestinais

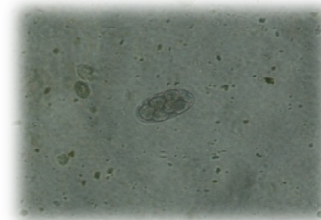
##### 3.2.4.1. *Oesophagostomum* spp.

###### 3.2.4.1.1. Etiologia

A esofagostomose é uma doença parasitária causada pelas diferentes espécies de *Oesophagostomum* spp., caracterizada pela formação de nódulos no intestino grosso dos suínos. As espécies de maior importância para os suínos são *Oesophagostomum dentatum* e *O. quadrispinulatum* tomando especial importância nas fases de recria, engorda e reprodução. Os ovos são típicos da Subordem Strongylida, de parede delgada, de 75 x 40 µm e com um conteúdo consistente de 8-16 blastómeros (Frontera Carrión *et al.*, 2009d).

Figura 10. Ovo da Subordem Strongylida. Ampliação total de 100x.

(Fotografia original)



### 3.2.4.1.2. Ciclo Biológico e Epidemiológico

O ciclo de vida deste parasita é directo. Os adultos vivem sobre a mucosa do cego e cólon, onde acasalam, e seguidamente as fêmeas iniciam a postura dos ovos (Roepstorff & Nansen, 1998; Reina, Domínguez-Alpizar, Rodríguez, Frontera Carrión & Navarrete, 2005). Os ovos são do tipo Strongylida, sem possível diferenciação com os eliminados por *Hyoststrongylus rubidus*. No meio ambiente, sob condições favoráveis de temperatura entre os 10-14 °C e 20-25 °C e humidade suficiente a partir de 75%, eclodem dos ovos as L1, passados dois ou três dias. Dois a quatro dias depois é possível alcançarem o estadio infectante, a L3. Esta abandona as fezes, dirige-se para o orvalho, onde permanece num excelente local para ser ingerida. A infecção é basicamente oral, ainda que exista evidência de que a penetração cutânea é possível (Nosal, Christensen & Nansen, 1998). As L3 perdem a sua bainha no final do intestino delgado e passadas 24 horas depois da ingestão penetram a mucosa do cego e cólon. Na submucosa produz-se a 3ª muda, a partir do 4º dia pós-infecção, começando a formação dos conhecidos nódulos. Depois da primeira semana, as L4 começam a regressar ao lúmen intestinal, processo este que se completa aos 14-20 dias nas primoinfecções. Nesse período e sobre a mucosa intestinal ocorre a última muda para o estadio adulto. O p.p.p varia segundo a espécie, oscilando entre os 30 e os 45 dias, podendo prolongar-se por um período de vários anos no caso de reinfecções, uma vez que muitas larvas entram em hipobiose (Reina *et al.*, 2005). Foi descrita a presença de larvas erráticas no fígado, peritонеu, pulmões e miocárdio que atravessaram a corrente sanguínea e linfática, acabando por morrer no interior dos granulomas que elas mesmas formam (Cordero del Campillo & Argüello, 2002c).

Relativamente ao ciclo epidemiológico, e no caso das primoinfecções, a prepatencia, segundo as espécies, oscila entre 30 e 45 dias aproximadamente, prolongando-se durante um longo período quando há reinfecções, pois nestas situações muitas larvas inibem-se, hipobiose, morrem parte delas e chegam a adultas as restantes num tempo dificilmente estimáveis, tendo em conta o grau de imunidade adquirido (Frontera Carrión *et al.*, 2009d). A eliminação dos ovos aumenta nos períodos de parto e é máxima durante a lactação, garantindo a infecção de novas gerações de hospedeiros (Radostitis *et al.*, 2007). Alguns autores referiram o papel dos hospedeiros de transporte para estas larvas, papel que poderiam exercer as moscas ao transmitir mecanicamente as larvas aderentes às suas patas entre instalações, ou mesmo os ratos, nos quais as larvas se poderiam enquistar (Frontera Carrión *et al.*, 2009d). Mesmo sendo esta nematodose frequente em suínos de engorda e em mães que saem dos pastos, ou em animais alojados em instalações com deficiências higiénicas, não é habitual observar grandes cargas parasitárias. Contudo, os adultos existentes eliminam milhares de ovos por grama de fezes, sendo particularmente perigosos os lugares sombrios e húmidos, perto dos comedouros e bebedouros com falta de higiene e as zonas onde haja fezes frequentemente. Nesses casos, é possível a contaminação dos leitões desmamados mas o habitual é que vão adquirindo pequenas quantidades de L3 que os

imunizem sem manifestações clínicas patentes. Os adultos permanecem moderadamente parasitados por sucessivas infecções, ainda que desenvolvam imunidade parcial. Estudos recentes demonstram que a infecção por *Oesophagostomum* spp. pode em animais co-infectados por *Salmonella* entérica serótipo *Typhimurium*, prolongar e intensificar a excreção desta bactéria (Steenhard *et al.*, 2006; Frontera Carrión *et al.*, 2009d).

### 3.2.4.1.3. Situação Epidemiológica

*Oesophagostomum* spp. apresenta uma distribuição cosmopolita (Radostitis *et al.*, 2007) e é comum a coexistência das duas espécies destes vermes no intestino grosso dos suínos (Roepstorff & Nansen, 1998). Adquire altos índices de prevalência, sendo escassas as explorações suínas, tanto de regime extensivo como intensivo, que não tenham sido afectadas em algum momento por este parasita. No entanto, a afecção parasitária mostra prioritariamente uma forma subclínica de apresentação (Frontera Carrión *et al.*, 2009d). Por outro lado, a importância económica deste processo subclínico é grande, já que estes quadros crónicos produzem enormes descidas na produção. Do mesmo modo, não é descartável o dano que estes agentes parasitários provocam no intestino dos animais afectados (Frontera Carrión *et al.*, 2009d). Quanto à epidemiologia no javali e no porco doméstico, nas tabelas 9 e 10 estão enunciados, respectivamente, alguns estudos de interesse sobre a presença de *Oesophagostomum* spp. nestes animais.

Tabela 9. Estudos de prevalência de *Oesophagostomum* spp. no javali.

País	Prevalência (%)	n	Referência
Alemanha	<i>O. dentatum</i> 46	124	Barutzki, Schoierer & Goth (1990)
	<i>O. quadrispinulatum</i> 8,1		
Portugal	<i>O. dentatum</i> 25	8	Bruno de Sousa <i>et al.</i> (2004)
Espanha	12	-	Domínguez-Alpízar <i>et al.</i> (2005)

Tabela 10. Estudos de prevalência de *Oesophagostomum* spp. em suínos domésticos de alguns países.

País	Prevalência (%)	n	Referência
Espanha	<i>O. dentatum</i> 11,6	689	García-Vallejo (1999)
Portugal	<i>Oesophagostomum</i> spp./ <i>Hyostromylus rubidus</i> 79	24*	Gião-Gomes (2009)
China	16,5	2971	Lai, Zhou, Huang & Hu (2011)

\* explorações; n = suínos domésticos investigados.

#### 3.2.4.1.4. Diagnóstico

Nas infecções agudas os sinais clínicos como, por exemplo, anorexia, fezes hemorrágicas e diarreia com muco ou com sangue, ocorrem durante o período de prepatencia e a diarreia aparecerá antes que os elementos de disseminação possam ver-se nas fezes, o que manifesta um período de incubação menor que o de prepatencia. Esta situação evidencia que na esofagostomose suína as larvas são mais patogénicas que os adultos, em especial para animais jovens. Nas infecções crónicas, as fezes mostram os típicos ovos de strongilídeo. Estes elementos de disseminação são indistinguíveis dos ovos de *Hyostrogylus rubidus*, por isso é bastante recomendável a realização de coproculturas para obter larvas de terceiro estadio, as quais apresentam detalhes que permitem a diferenciação. Caso contrário, o diagnóstico assertivo ou parasitológico, através da visualização dos ovos a partir das fezes, não tem valor como método de diagnóstico preciso (Frontera Carrión *et al.*, 2009d).

A necrópsia é uma ferramenta de apreciado valor, uma vez que as lesões nodulares clássicas ao longo do intestino grosso, especialmente, são de fácil evidência e portanto de grande validade (Radostitis *et al.*, 2007).

#### 3.2.4.2. *Trichuris suis*

##### 3.2.4.2.1. Etiologia

A tricurirose é uma doença parasitária produzida pelo género *Trichuris*, pertencente à Família Trichuridae, que afecta praticamente todos os mamíferos, excepto os equinos. Nos suínos, a espécie responsável pela tricurirose é *Trichuris suis*. Existe uma semelhança morfológica com a espécie que afecta os humanos, *T. trichuria*, contudo, actualmente, estas duas espécies apesar de se considerarem intimamente relacionadas são geneticamente diferentes (Cutillas *et al.*, 2009). É um parasita que se localiza no cego e no cólon dos suínos, onde, por vezes, não provoca manifestações clínicas em adultos, e raramente em jovens, em condições orgânicas óptimas; por outro lado, causa doença grave, quadro anémico e diarreico, se a parasitação é massiva. Causa ainda doença indirecta ao actuar como imunossupressor ou porta de entrada para outros agentes patogénicos, sendo esta última consideração especialmente importante no caso dos leitões onde se podem produzir mortes (Frontera Carrión *et al.*, 2009o). Os ovos do género *Trichuris* são muito característicos pela sua forma de limão e pela sua cor laranja-acastanhada. Estão providos de uma casca e de dois opérculos polares hialinos, que dão ao conjunto essa típica morfologia. Ao serem expulsos pelas fêmeas estão sem embrionar e medem 50-61 µm de largura (Frontera Carrión *et al.*, 2009o).



Figura 11. Ovo de *Trichuris suis*. Ampliação total de 400x.

(Fotografia gentilmente cedida pelo departamento de Parasitologia da FVC-UEX)

#### **3.2.4.2.2. Ciclo Biológico e Epidemiológico**

*T. suis* tem um ciclo de vida directo. Os animais doentes e os portadores eliminam ovos com as fezes, alternando a escassa produção com uma postura de entre 3000 e 10000 ovos por dia. Em condições óptimas de humidade, próxima a 100%, e de temperatura, entre 28 e 34°C, alcançam em três semanas o estadio infectante, contudo, podem necessitar de vários meses quando as temperaturas ou outras condições não são favoráveis (Frontera Carrión *et al.*, 2009o). O estadio infectante corresponde ao ovo contendo a L1, embora alguns autores acreditem que em condições favoráveis ao meio ambiente também possa evoluir para uma L2. A infecção dos suínos dá-se por via oral, através da ingestão de ovos contendo L1 ou L2 (Cordero del Campillo & Argüello, 2002f). No hospedeiro, os ovos eclodem quase sempre nas últimas porções do intestino delgado, onde as larvas invadem as glândulas de *Lieberkühn*. Depois de três mudas, ou quatro, segundo alguns autores, alcançam o estado adulto, processo que demora cerca de sete semanas (Radostitis *et al.*, 2007). Os adultos voltam ao lúmen do intestino delgado e dirigem-se para o cego e cólon, fixando o seu extremo cefálico à mucosa. Um mês depois da infecção começam a aparecer nas fezes os primeiros ovos. A longevidade dos adultos pode ir até aos quatro ou cinco meses. Todo o desenvolvimento do ciclo ocorre dentro do epitélio intestinal, não estando descritas migrações extra-intestinais (Navarrete, Frontera Carrión, Alcaide & Reina, 2005).

Relativamente ao ciclo epidemiológico, tem grandes semelhanças com o da Ascariose. Os ovos não suportam temperaturas muito altas, sendo a ideal por volta dos 20°C, nem a luz solar directa, nem o frio intenso nem a putrefacção. É uma parasitose que pode surgir associada a outras helmintoses e é indicadora de más condições higiénicas. Infecções por *T. suis*, *A. suum* ou *Oesophagostomum* spp. induzem lesões na mucosa intestinal, o que facilita a invasão e persistência de infecção por *Salmonella* (Steenhard *et al.*, 2006). Apesar de afectar animais de todas as idades, os nemátodes de *T. suis* são mais frequentes em animais com idade inferior a seis meses, de tal forma que em zonas endémicas observa-se que são infectados com maior influência, por volta de 85% dos animais tem entre 12 e 24 semanas de idade, enquanto os adultos não ultrapassam os 36% (Alcaide *et al.*, 2005). As porcas e os varrascos apresentam baixos índices de infecção, provavelmente devido à forte protecção imunitária que desenvolvem nas anteriores infecções (Frontera Carrión *et al.*, 2009o). Tem sido demonstrada sinergia entre o *T. suis* e o *Campylobacter jejuni* (Radostitis *et al.*, 2007).

#### **3.2.4.2.3. Situação Epidemiológica**

A tricuriose é uma doença parasitária que apresenta uma elevada prevalência em países tropicais e subtropicais (Navarrete *et al.*, 2005). No entanto é relativamente frequente no suíno doméstico e selvagem na Península Ibérica (Cordero del Campillo & Argüello, 2002f). O prolongado período requerido para o desenvolvimento embrionário em ambiente exterior e a baixa proporção de parasitas que chegam ao estado adulto, experimentalmente, entre 9 e 38% da dose

infectante, explicam que embora sendo uma parasitose relativamente frequente são raras as infecções maciças. Esta parasitose é cada vez mais associada a sistemas de produção ao ar livre em parques de terra e alimentação em montanha (Navarrete *et al.*, 2005; Frontera Carrión *et al.*, 2009o; Roepstorff *et al.*, 2011). Segundo alguns dados recompilados sobre a incidência da tricuriose nos suínos de alguns países europeus, nomeadamente, Espanha, pode-se afirmar que não se trata de uma parasitose de grande relevância (Frontera Carrión *et al.*, 2009o).

Quanto à epidemiologia no javali e no porco doméstico, nas tabelas 11 e 12 estão enunciados, respectivamente, alguns estudos de interesse sobre a presença de *T. suis* neste hospedeiro.

Tabela 11. Estudos de prevalência de *T. suis* no javali.

<b>País</b>	<b>Prevalência (%)</b>	<b>n</b>	<b>Referência</b>
Irão	8,3	12	Solaymani-Mohammadi <i>et al.</i> (2003)
Espanha	3,6	717	García-González (2010)
Portugal	12,5	8	Bruno de Sousa <i>et al.</i> (2004)
Turquia	7	27	Senlik, Cirak, Girisgin & Akiol (2011)

Tabela 12. Estudos de prevalência de *T. suis* em suínos domésticos de alguns países.

<b>País</b>	<b>Prevalência (%)</b>	<b>n</b>	<b>Referência</b>
Espanha	5,4	689	García-Vallejo (1999)
Portugal	17	24*	Gião-Gomes (2009)
Japão	24,8	129	Matsubayashi <i>et al.</i> (2009)
China	10,1	2971	Lai, Zhou, Huang & Hu (2011)

\*explorações; n = suínos domésticos investigados.

#### 3.2.4.2.4. Diagnóstico

Tal como ocorre num grande número de doenças parasitárias, o diagnóstico epidemiológico e clínico não costuma ser definitivo, uma vez que carecem de sinais patognomónicos, contudo, ajudam na orientação para um diagnóstico mais específico e eficaz. A tudo isto, podemos juntar a valiosa informação epidemiológica que se obtém da zona, assim como a história clínica da exploração, tipo de exploração ou sistema de produção, práticas de manejo e, também ter sempre presente as características do meio ambiente da zona e a época do ano em que nos encontramos (Frontera Carrión *et al.*, 2009o). Os sinais e lesões mais significativos são os focos de inflamação no cego e cólon e a anemia, derivados da acção mecânica provocada quer pelas larvas, ao causarem soluções de continuidade na mucosa, quer pelos adultos, ao introduzirem a

sua extremidade cefálica no cego e cólon, atravessando tecidos e vasos sanguíneos (Cordero del Campillo & Argüello, 2002f; Radostitis *et al.*, 2007); a anemia pode também ser devida à acção espoliadora devida à qualidade de hematófagos que estes parasitas apresentam e ainda à acção tóxica destes agentes, provocando uma hemólise, consequência da eliminação de substâncias com alto grau de toxicidade, originando uma anemia secundária. A acção inoculadora e stressante leva a complicações com outros quadros intestinais e gerais, tais como a salmonelose, várias viroses, mal rubro, balantidiose, etc., para além de uma sensação de intranquilidade e desassossego que impedem a boa alimentação e metabolização do ingerido (Frontera Carrión *et al.*, 2009o). Produz-se uma reacção inflamatória ao nível do cólon e cego, com aumento da espessura da parede intestinal, hipersecreção de muco consequência da hipertrofia glandular, aparecimento de úlceras, petéquias e um grande infiltrado celular. Podem observar-se fezes mucosas, diarreicas, com mau cheiro, e por vezes hemorrágicas. Há uma quebra no crescimento, com baixo índice de conversão, mau aspecto da pele e geral, anorexia, entre outros, podendo mesmo causar a morte (Radostitis *et al.*, 2007).

Na análise coprológica podemos observar os ovos expulsos pelos animais parasitados. Para isso devemos utilizar soluções saturadas de flutuação, como a de NaCl, a de sacarose, a de sulfato de zinco a 33% ou a solução de sulfato de magnésio. O diagnóstico coprológico é de interesse mas sempre tendo em conta que a expulsão de ovos de *T. suis* varia em intensidade ao longo da infecção. Isto deve-se aos silêncios reprodutivos das fêmeas adultas, assim como a fases de prepatencia por existência de formas larvares unicamente ou de adultos jovens imaturos. A especial morfologia dos ovos facilita a sua visualização e identificação (Cordero del Campillo & Argüello 2002f; Frontera Carrión *et al.*, 2009o). A necrópsia do animal permite o isolamento de adultos no cólon e cego ou a visualização de ovos em raspagens das lesões na mucosa intestinal. A necrópsia apresenta-se como um método mais seguro de diagnóstico, uma vez que a visão das larvas ou adultos nas suas localizações não é muito complexa, e ainda consegue-se saber mais sobre o grau de patogenicidade que estes parasitas estão a desenvolver na população de suínos (Frontera Carrión *et al.*, 2009o). Em relação ao diagnóstico diferencial, apesar dos sinais clínicos que definem a doença causada por *T. suis*, seria necessário estabelecer um diagnóstico diferencial com outras possíveis doenças que ocorram com um quadro clínico-lesional semelhante, como são as doenças gastrointestinais de origem bacteriana, tal como *Clostridium* spp., *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, entre outras; de origem viral, tal como o rotavírus ou coronavírus; ou ainda com outros parasitas, tais como *A. suum*, *Oesophagostomum* spp. (Frontera Carrión *et al.*, 2009o).

### **3.2.4.3. *Ascaris suum***

#### **3.2.4.3.1. Etiologia**

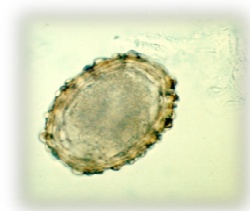
A ascariose é a helmintose mais frequente e importante na cria e recria de suínos, pela sua grande prevalência em praticamente todo o mundo. É um parasita muito importante quanto à



produção suína, originando uma significativa redução no ganho de peso, atrasos no crescimento, perdas reprodutivas, mau estado geral e rejeições de fígados e pulmões em matadouros, devido às migrações larvares, se bem que costuma apresentar-se como uma infecção subclínica (Roepstorff & Nansen, 1994; Frontera Carrión *et al.*, 2009a). Os ovos fertilizados são largos e ovóides, apresentam uma membrana externa espessa e transparente, constituída por uma membrana vitelina interna relativamente impermeável e de natureza lipídica, e que não está presente nos ovos inférteis; apresentam ainda uma capa média transparente e grossa de natureza quitinoproteica e uma capa externa, mamilada albuminóide e geralmente corada de cor de café dourado; a membrana vitelina é inerte, e devido à sua impermeabilidade evita que substâncias tóxicas do meio ambiente possam lesionar o embrião. São extremamente resistentes a factores digenésicos ambientais e a agentes químicos (Roepstorff & Nansen, 1998). Estes ovos medem 60-75 µm por 50-55 µm no seu diâmetro menor; quando são esféricos têm cerca de 60 µm de diâmetro. O ovo não está segmentado e quando é eliminado com as fezes contém uma massa de grânulos grossos de lecitina (Frontera Carrión *et al.*, 2009a).

Figura 12. Ovo de *Ascaris suum*. Ampliação total de 260x.

(Fotografia gentilmente cedida pelo departamento de Parasitologia da FVC-UEx)



#### 3.2.4.3.2. Ciclo Biológico e Epidemiológico

*A. suum* tem um ciclo evolutivo directo com uma migração complexa no interior do hospedeiro (Frontera Carrión *et al.*, 2009a). As fêmeas depositam os ovos não embrionados, no intestino delgado, saindo estes com as fezes e dispersando-se no meio exterior. Uma fêmea pode depositar cerca de 200 000 ovos diários. Os ovos na pastagem chegam a ser infectantes a partir das 3-5 semanas depois da eliminação nas fezes, sempre que as condições ambientais sejam favoráveis, ficando embrionados aos 37 dias a 16°C, enquanto apenas requerem oito dias a 31°C. Uma vez que desenvolvem a larva móvel no seu interior, é necessário um período adicional de maturação fisiológica para que essas larvas possam ser infectantes. As L3 que emergem dos ovos penetram a parede do cego e a parte superior do intestino grosso. Posteriormente, depois de atravessar a parede intestinal vão seguir uma migração dos tecidos. A maioria delas alcançam, via sistema porta-hepático, o fígado, ainda que algumas, seguindo a via linfática, chegam aos linfonodos mesentéricos e outras podem ainda ser encontradas ectopicamente na cavidade peritoneal e outras localizações, excepcionalmente (Frontera Carrión *et al.*, 2009a). A maioria das larvas chega ao fígado entre o 1º e 5º dia depois de terem sido ingeridas, onde causam uma reacção inflamatória provocando as chamadas *milk spots*. Daqui passam, via sanguínea, ao coração para alcançar o tecido pulmonar, migram lentamente desde os alvéolos aos bronquíolos, brônquios e finalmente à traqueia, tendo lugar o pico,



relativamente ao número de larvas, no pulmão aos 12 dias pós infecção, aproximadamente. A partir daí as larvas são deglutidas e chegam ao intestino entre 14 e 21 dias depois da infecção. Quando chegam ao intestino delgado a maioria delas são expelidas e o resto das sobreviventes desenvolvem-se até formas adultas. O período pré patente dura, aproximadamente, seis semanas (Radostitis *et al.*, 2007).

Quanto ao ciclo epidemiológico, os ovos são muito resistentes aos factores digenésicos ambientais, como a falta de humidade, a congelação ou o contacto com produtos químicos (Roepstorff & Nansen, 1998). São capazes de sobreviver a temperaturas de -11°C durante 30 dias e de -27°C durante 10 dias, o que lhes possibilita uma viabilidade de 5 anos ou mais. O calor e a dessecação destrói-os em poucas semanas. Os ovos embrionados inactivam-se em 45-60 minutos a 50°C e em 15 minutos a 55°C. Sabe-se ainda que são rapidamente destruídos a uma temperatura de 55°C e resistem apenas 2 dias a 47°C (Rosypal *et al.*, 2007). Os solos ricos em matéria orgânica permitem a sobrevivência dos ovos, especialmente nos microhabitats húmidos ao abrigo da luz solar directa. A larva raramente eclode, e normalmente a infecção realiza-se depois da ingestão de ovos infectantes com os alimentos, ou a partir de contaminações epiteliais que as mães inferem aos leitões (Roepstorff & Nansen, 1998). Depois da ingestão, estes ovos eclodem no intestino do suíno, necessitando de, pelo menos, quatro estímulos para a sua abertura: temperatura corporal óptima, nível de dióxido de carbono de aproximadamente 5 volumes/litro, pH de aproximadamente 6 e condições redutoras não específicas, tais como as proporcionadas pela cisteína, glutatião, entre outros (Frontera Carrión *et al.*, 2009a). A receptividade do hospedeiro é máxima desde o nascimento até aos quatro meses e decresce posteriormente, pelo que o parasita é pouco frequente em animais com mais de dois anos. Consequentemente, a manutenção da ascariose não depende tanto dos suínos adultos mas sim das ninhadas infectadas, em idades de 3-6 meses, que vão eliminando ovos cuja evolução prolongada e grande resistência lhes permite uma ligação com o parto seguinte (Frontera Carrión *et al.*, 2009a). Está comprovada uma resistência adquirida ao *A. suum* nos suínos de raça ibérica relacionada com a alta produção de imunoglobulinas tipo IgG<sub>1</sub> e IgM; estas actuam predominantemente sobre as larvas havendo paragem das suas migrações, bem como um desenvolvimento mais lento e eliminação de muitas delas. A protecção dos animais pode ser total em adultos que vivam em ambientes contaminados, originando uma barreira pré-hepática à migração larvar. A imunidade às migrações larvares pode ainda ser transferida pelo colostro ou soro imune. Sabe-se que existem elevadas quantidades de anticorpos no líquido entérico (Cordero del Campillo & Argüello, 2002<sup>a</sup>; Radostitis *et al.*, 2007; Frontera Carrión *et al.*, 2005)). Foi ainda demonstrado a nível experimental que a infecção por *A. suum*, de porcas durante a gestação pode induzir tolerância nos neonatos, facilitando também a transmissão vertical da infecção (Thamsborg *et al.*, 1999).

### 3.2.4.3.3. Situação Epidemiológica

*Ascaris suum* é o maior nemátodo que afecta os suínos, o mais cosmopolita e possivelmente um dos que maior significado veterinário tem. Quanto à epidemiologia no javali e no porco doméstico, nas tabelas 13 e 14 estão enunciados, respectivamente, alguns estudos de interesse sobre a presença de *A. suum* nestes animais.

Tabela 13. Estudos de prevalência de *Ascaris suum* no javali.

País	Prevalência (%)	n	Referência
Espanha (Valencia)	2	47	De-la-Muela <i>et al.</i> (2001)
Espanha (Extremadura)	4,2	717	García-González (2010)

Tabela 14. Estudos de prevalência de *Ascaris suum* em suínos domésticos de alguns países.

País	Prevalência	n	Referência
Dinamarca	76%	79*	Haugegaard (2010)
Portugal	25%	24*	Gião-Gomes (2009)
Japão	14,7%	129	Matsubayashi <i>et al.</i> (2009)
China	10,1%	2971	Lai, Zhou, Huang & Hu (2011)
Espanha	28,7%	689	García-Vallejo (1999)

\*explorações; n = número de suínos domésticos investigados.

### 3.2.4.3.4. Diagnóstico

A ascariose pode ser diagnosticada por detecção de ovos nas fezes, por visualização de adultos, larvas e/ou de *milk spots* na necrópsia ou mediante análise serológica. Relativamente às técnicas coprológicas, as infecções por *A. suum* são maioritariamente diagnosticadas, actualmente, por análise fecal, por ser barato, rápido e fácil de realizar. Contudo, esta técnica tem uma série de limitações importantes uma vez que em várias ocasiões costumam observar-se em animais falsos positivos ou falsos negativos. Os falsos negativos devem-se maioritariamente à presença de vermes imaturos no animal, uma vez que o período de prepatencia é de 6-7 semanas, ou por infecções produzidas por parasitas de um só sexo. Por outro lado, os falsos positivos devem-se fundamentalmente à ingestão de ovos do meio ambiente, ou seja, por coprofagia, que atravessam o intestino do suíno e que, como consequência da activação do sistema imunitário, são expulsos de novo sem que se chegue a produzir a eclosão da larva. Alguns autores calcularam que entre 4 e 36% dos animais coprologicamente positivos a *A. suum* eram realmente falsos positivos, isto é, sem adultos no intestino, estimando-se, depois de diversos estudos, que o limite para distinguir entre excreção activa, ou seja, infecção real e passiva de

ovos é uma carga de 200 ovos por grama de fezes (Frontera Carrión *et al.*, 2009a). Uma contagem superior a 1000 considera-se uma infecção significativa (Radostitis *et al.*, 2007). Quanto ao exame *postmortem*, a ascariose pode ser diagnosticada por recuperação de nemátodes adultos no animal, que são muito fáceis de recuperar do intestino graças ao seu grande tamanho. As larvas, pelo contrário, muito mais pequenas, podem ser recuperadas do fígado e do pulmão mediante a técnica de Baermann, pela técnica agar-gel ou por meio da digestão pépsicoclorídrica dos tecidos (Frontera Carrión *et al.*, 2009a) e podem ainda ser detectadas microscopicamente em raspagens de muco brônquico (Radostitis *et al.*, 2007). Por vezes podem aparecer adultos nas fezes, tal como no intestino delgado durante a necrópsia (Cordero del Campillo & Argüello, 2002a). Podem ainda identificar-se as lesões hepato-pulmonares. Por último, na análise serológica, as infecções por *Ascaris* nos suínos e Homem têm sido diagnosticadas por uma grande quantidade de ensaios e técnicas imunológicas. Algumas análises permitem distinguir entre *A. suum* e *A. lumbricoides*. Segundo alguns estudos experimentais, a produção de anticorpos começa a detectar-se a partir da 2ª semana depois da infecção (Frontera Carrión *et al.*, 2009a). Em fases iniciais de infecção maciça, deve fazer-se o diagnóstico diferencial com pneumonia enzoótica suína e em estadios mais crónicos da infecção deve diferenciar-se da má nutrição e enterite crónica devido a infecção por *Salmonella* (Radostitis *et al.*, 2007).

### **3.2.5. Outros Nemátodes gastrointestinais**

#### **3.2.5.1. Etiologia**

As helmintoses gástricas são produzidas por um grupo de parasitas que afectam o estômago dos suínos e todas elas têm em comum a semelhança de sinais clínicos, lesões encontradas na necrópsia, diagnóstico, tratamento e controlo, variando entre os diferentes géneros as características morfológicas, a sua frequência e intensidade parasitária, assim como também, em alguns deles, o seu diferente grau de patogenicidade. Os géneros de parasitas implicados nesta localização gástrica são *Hyoststrongylus rubidus* (pertencente à Subordem *Strongylida*), *Ascarops strongylina* e *Physocephalus sexalatus*.

Existe ainda a Estrongiloidose, que é um processo parasitário produzido pelas diferentes espécies pertencentes ao género *Strongyloides*, podendo estas afectar um bom número de hospedeiros, tanto domésticos como silvestres, nos quais costumam produzir, fundamentalmente, inflamações cutâneas, pulmonares e entéricas. A espécie responsável pela doença nos suínos é *Strongyloides ransomi* (Frontera Carrión *et al.*, 2009e).

Os suínos podem ainda ser afectados por alguns Nemátodes como, por exemplo, *Globocephalus urosubulatus*, tem uma relevância clínica e frequência de apresentação realmente escassa e em muito poucas ocasiões foram diagnosticadas como doença com sinais e lesões aparentes (Frontera Carrión *et al.*, 2009j).

### 3.2.5.2. Ciclo Biológico e Epidemiológico

*H. rubidus* apresenta um ciclo biológico directo. A partir da expulsão dos ovos nas fezes e considerando uma temperatura óptima entre 15 e 25°C, os ovos eclodem em 40 horas, aproximadamente. A L1 eclodida pode, em 7 dias alcançar o estado de L3 (Cordero del Campillo & Argüello, 2002e). Estas larvas infectantes são ingeridas pelos suínos e ao chegar ao estômago perdem a sua bainha, penetram nas glândulas fúndicas através dos condutos excretores e realizam uma nova muda, formando-se assim a L4 aos quatro ou cinco dias pós-infecção (Cordero del Campillo & Argüello, 2002e). Em menos de duas semanas passam a L5, regressando à luz gástrica e em poucas horas copulam e começam a postura dos ovos. Isto ocorre entre a segunda e terceira semana pós-infecção, sendo o seu período pré patente de 18 a 21 dias. As condições ambientais e as infecções intensas e prolongadas favorecem a hipobiose larvar, que pode prolongar-se por vários meses (Frontera Carrión *et al.*, 2009i). Talvez o aspecto mais importante no ciclo epidemiológico da hiostrongilose suína esteja na sua capacidade para desenvolver uma hipobiose sazonal que ocorre pelas L4 inibidas. Estas larvas hipobióticas constituem um reservatório de substituição de parasitas o que ajuda a manter uma população estável de adultos, apesar da perda de adultos no estômago. Para além disto, há que ter em conta o aumento na eliminação de ovos que ocorre nas fêmeas afectadas durante o periparto. Outro aspecto importante é que as larvas em microhabitats adequados de humidade e protecção de luz podem sobreviver vários meses (Cordero del Campillo & Argüello, 2002e). As larvas não resistem mais de 30 dias a temperaturas de -1 a -5°C e morrem facilmente em ambientes secos. Todas estas características epidemiológicas circunscrevem o processo patológico da hiostrongilose em suínos criados em pastagens ou áreas livres, onde é clássica a apresentação sazonal primavera-outono. O desenvolvimento óptimo e a sobrevivência de *Hyostrongylus* relacionam-se com intervalos de temperatura entre os 15 e 20°C e humidades ambientais da ordem dos 79,5 a 95,5% (Frontera Carrión *et al.*, 2009i). Infecções experimentais com este parasita mostram que os suínos não infectados apresentam uma eficiência alimentar superior à dos suínos infectados de 8%, bem como uma melhor digestibilidade de proteína bruta, menor excreção de nitrogénio (Domínguez-Alpízar, Sáenz, Alcaide & Reina, 2005).

*A. strongylina* tem um ciclo de vida indirecto ou heteroxeno, uma vez que intervêm como hospedeiros intermediários os coleópteros coprófagos, isto é, escaravelhos como, por exemplo, os dos géneros *Aphodius*, *Onthophagus*, *Scarabeus*, entre outros, que ingerem fezes com ovos embrionados e onde se desenvolve a L3. A infecção é por via oral e os suínos infectam-se quer por ingestão desses escaravelhos, quer por ingestão de hospedeiros paraténicos, tais como as aves ou micromamíferos que os tenham ingerido anteriormente. Seguidamente, as L3 são libertadas no estômago e implantam-se directamente na mucosa gástrica até completar o seu desenvolvimento. O período prépatente é de quatro semanas (Domínguez-Alpízar *et al.*, 2005).

*P. sexalatus*, tem um ciclo biológico muito idêntico ao do *A. strongylina*, sendo também indirecto e com os escaravinhos coprófagos como hospedeiros intermediários. No intestino destes desenvolvem-se as L1, L2 e L3. Quando os escaravinhos infectados são ingeridos pelos hospedeiros definitivos, o desenvolvimento continua até se formarem os parasitas adultos. São reconhecidos como hospedeiros de transporte os anfíbios, répteis e mamíferos, que podem actuar desta forma ao ingerirem escaravinhos infectados. O período de prepatência é de 6 semanas. Quanto ao ciclo epidemiológico, este parasita pode parasitar coelhos e lebres silvestres, sendo esta uma circunstância que deve ser tomada em consideração na produção de suínos em montanha (Frontera Carrión *et al.*, 2009i).

*S. ransomi* tem um ciclo de vida directo e complexo caracterizado por uma alternância entre os ciclos de vida livre e parasitário. Na fase parasitária as fêmeas depositam os ovos embrionados no intestino delgado dos suínos, estes são excretados nas fezes e as L1 eclodem no meio ambiente, evoluindo em condições óptimas até ao estadio infectante L3, em 22 a 24 horas. A alternância de factores ambientais e a disponibilidade de hospedeiros adequados influenciam o desenvolvimento de um ou outro ciclo. O hospedeiro infecta-se por via oral ou transcutânea. Quando a infecção é por via oral, as larvas podem ser veiculadas através de alimentos contaminados enquanto no caso de infecção por via transcutânea, as L3 penetram de forma activa nos folículos pilosos e orifícios sudoríparos da pele, preferencialmente na zona das axilas, virilhas, glândulas mamárias ou espaços interdigitais. Em ambos os casos as larvas migram por via hemolinfática até ao coração e pulmões, ascendem à faringe onde são deglutidas alcançando o intestino delgado onde sofrem maturação e passam ao estado adulto três ou quatro dias depois da infecção. Nesse local, invadem o epitélio das vilosidades intestinais e por vezes também as glândulas onde realizam mudas para alcançar o estado adulto (Cordero del Campillo & Argüello, 2002e). Nas fêmeas, especialmente nas mais velhas, as L3 podem acumular-se no tecido subcutâneo e migrar para a glândula mamária quando se inicia a lactação. As larvas são veiculadas aos leitões pelo colostro e pelo leite materno durante as suas três primeiras semanas de vida. Uma vez infectados, os leitões recém-nascidos podem apresentar no intestino delgado, vermes adultos ao fim de uma semana (Radostitis *et al.*, 2007). As larvas acantonadas no tecido subcutâneo ou adiposo da glândula mamária podem permanecer em hipobiose até períodos superiores a 2 anos. É também possível a infecção transplacentária, no entanto esta tem pouca importância uma vez que, geralmente as larvas têm muita dificuldade em evoluir até ao estado adulto (Frontera Carrión *et al.*, 2009i). O período pré-patente é de 7 a 9 dias, contudo em caso de transmissão lactogénica, esse período diminui para 4 ou 5 dias. Assim, relativamente ao ciclo epidemiológico, com temperaturas entre 20 e 37°C as gerações tendem a ser de vida livre e com temperaturas inferiores a tendência é a vida parasitária. Quando os valores de pH são demasiado baixos no ambiente, o ciclo costuma inclinar-se para a vida parasitária, sempre dependente da presença próxima de hospedeiros muito susceptíveis. Isto é, se existem leitões disponíveis o

ciclo tende a ser parasitário, enquanto na presença de suínos adultos é mais frequente a alternância com gerações de vida livre (Frontera Carrión *et al.*, 2009i).

Os adultos de *G. urosubulatus*, localizados no intestino dos suínos, copulam e as fêmeas põem os ovos que saem ao meio ambiente através das fezes. Uma vez desenvolvida a L1, esta eclode e muda a L2 e L3 no meio externo. A L3 infecta outros suínos, por via oral ou através da pele ou das mucosas via transcutânea, com migração hemática até aos pulmões e regresso ao aparelho digestivo pela traqueia, faringe, esófago, etc., até chegar ao intestino delgado anterior. O período de prepatencia total é de 26-36 dias (Frontera Carrión *et al.*, 2009j).

### **3.2.5.3. Situação Epidemiológica**

*H. rubidus*, devido às particularidades do seu ciclo de vida, no qual costumam intervir diferentes hospedeiros intermediários, os helmintes gástricos dos suínos são especialmente importantes na raça ibérica. Obviamente, esta especial associação deve-se ao acesso dos suínos, quase exclusivamente os produzidos em regime extensivo, a hospedeiros intermediários que se localizam na cadeia epidemiológica. Quanto à prevalência em Espanha, García-Vallejo (1999), num estudo de 689 suínos da raça ibérica da *Extremadura*, detectou uma prevalência muito baixa, da ordem dos 0,3% (García-Vallejo, 1999; Frontera Carrión *et al.*, 2009i).

*A. strongylina*, em 1999, segundo o estudo de García-Vallejo apresentava uma prevalência de 10,7% na *Extremadura* (García-Vallejo, 1999; Frontera Carrión *et al.*, 2009i). Em Portugal, este nematode foi assinalado no javali com uma prevalência de 12,5% (Bruno de Sousa *et al.*, 2004).

*P. sexalatus*, nunca foi encontrado em suínos em Espanha, ao contrário do que acontece em javalis na zona de Valencia (Frontera Carrión *et al.*, 2009i). Em Portugal, num estudo efectuado em 24 explorações de suínos da raça Alentejana produzidos em regime de Montanha, apresentaram uma prevalência de 25% (Gião-Gomes, 2009).

*S. ransomi*, produz a Estrongiloidose que é uma doença parasitária cosmopolita, frequente essencialmente em países quentes e húmidos e algo menos detectável em países frios. De uma forma geral, a sua frequência pode ser maior do que em primeira instância se poderia pensar, uma vez que, devido ao tamanho e características morfológicas dos seus elementos de disseminação, em numerosas ocasiões o parasita escapa ao diagnóstico de rotina por métodos directos. De qualquer modo, a prevalência é muito variável, entre 1% e 33%, dependendo fundamentalmente do clima e do sistema de exploração. Em Portugal, no estudo efectuado por Gião-Gomes (2009), das 24 explorações de suínos de raça alentejana estudadas a prevalência deste parasita foi de 29%.

*G. urosubulatus* é um parasita muito frequente nos javalis europeus e nos suínos produzidos em sistema extensivo. Gião-Gomes (2009) encontrou uma prevalência de 42% no seu estudo com suínos da raça alentejana e no javali em Portugal, Bruno de Sousa *et al.*, (2004), assinalaram uma prevalência de 62,5%.

#### 3.2.5.4. Diagnóstico

O diagnóstico clínico de *H. rubidus* deve basear-se na história do efectivo em pastoreio ou o acesso frequente à pastagem ou terra. O diagnóstico laboratorial deve eleger como técnicas iniciais as coprológicas, através dos métodos de flutuação, na procura dos clássicos ovos de estrongilídeos. Considerando que este parasita tem baixa fecundidade, deve ter-se em conta a possibilidade de resultados falsos negativos. Como segundo procedimento, não alternativo senão adicional ao primeiro, deve recorrer-se à coprocultura, para fazer evoluir em pouco tempo e em condições laboratoriais os ovos eliminados por via fecal. Sabe-se que os ovos da Subordem Strongylida são praticamente indiferenciáveis quando são eliminados pelas fezes; deste modo, a distinção entre *H. rubidos*, habitante habitual do estômago dos suínos e, principalmente, *Oesophagostomum* spp. localizado no intestino grosso no seu estado adulto. Não se deve também esquecer o estudo *postmortem*, através da realização de uma necrópsia, na qual será indispensável efectuar raspagens da mucosa gástrica para a detecção dos estados imaturos (Frontera Carrión *et al.*, 2009i).

Do mesmo modo, os procedimentos diagnósticos seleccionados para a detecção de *H. rubidus* são aplicáveis no diagnóstico de *A. strongylina* e de *P. sexalatus*.

Para o diagnóstico de *S. ransomi*, a sintomatologia não é demasiado exuberante nem diferencial, sendo portanto claramente inespecífica e portanto o diagnóstico clínico é complicado. Talvez a presença de quadros diarreicos em animais jovens possam ser orientativos, sempre e quando é descartada a presença de coccídios, outros helmintes, bactérias e/ou vírus de diversas etiologias (Frontera Carrión *et al.*, 2009e). O diagnóstico laboratorial é indispensável, devendo-se recorrer ao estudo coprológico nos animais vivos, fundamentalmente através do método qualitativo de flutuação. Deste modo será possível observar os típicos ovos deste parasita, elípticos, de 40-60 x 20-35 µm, com uma parede delgada e o seu embrião formado. Deverá realizar-se um diagnóstico diferencial com os ovos de nemátodes pulmonares, concretamente do género *Metastrongylus*, que também aparecem larvados, mas são de maior tamanho e mostram uma morfologia ovóide com cutícula rugosa. Devido ao facto da larva de primeiro estágio de *S. ransomi* eclodir em poucas horas, esta particularidade pode constituir como um elemento diferenciador. O conhecimento desta rápida eclosão, juntamente com a apresentação de um esófago rãbitiforme nos primeiros estados larvares, tal como apresentam os Nemátodes de vida livre, faz com que seja mais conveniente a colheita de amostras fecais directamente do recto dos animais objecto de estudo. Nos animais mortos, a realização de necrópsia permite a identificação de fêmeas adultas nas raspagens da mucosa intestinal (Frontera Carrión *et al.*, 2009e).

O diagnóstico de *G. urosubulatus* baseia-se na observação dos ovos através de coprologia. É necessária a diferenciação com os ovos de *H. rubidus*. Para tal, recorre-se à coprocultura, de tal forma que as L3 de *Globocephalus* spp. são muito pouco móveis, com cauda afilada (diferencia



com *Hyostrongylus* spp.) e o esófago não tem lóbulos (ao contrário das de *Oesophagostomum* spp.) (Frontera Carrión *et al.*, 2009j).

### 3.3. Parasitas zoonóticos do porco Ibérico

#### 3.3.1. *Balantidium coli*

##### 3.3.1.1. Etiologia

A Balantidiose é uma doença parasitária produzida pelo protozoário ciliado *Balantidium coli*. Actualmente, surge com alguma frequência a seguinte pergunta: será que *B. coli* dos humanos e *B. suis* dos suínos são o mesmo organismo? Os dois organismos aparentam ser diferentes, sendo *B. coli* maior e *B. suis* mais pequeno, evidência suficiente para alguns autores que os consideram distintos, contudo, para outros estas diferenças são devidas às condições de crescimento (Schuster & Ramirez-Avila, 2008). Existem alguns estudos de análise genética publicados, na tentativa de responder à questão, contudo não são conclusivos quanto às diferenças entre os organismos (Ponce-Gordo, Fonseca-Salamanca & Martínez-Díez, 2011). Assim, e porque não há ainda certezas das diferenças, vamos chamar-lhe *B. coli* ao longo da dissertação. *B. coli* é o único protozoário ciliado com potencial zoonótico. Esta zoonose é adquirida por via orofecal, através do seu hospedeiro habitual, o suíno doméstico ou javali, originando geralmente um quadro assintomático. A água e os vegetais contaminados com *B. coli* são as fontes de contágio mais frequentes em países desenvolvidos, enquanto em países tropicais são as condições de falta de água potável, pobre higiene e má nutrição. *B. coli*, normalmente, comporta-se como um comensal não patogénico, tanto no suíno como no Homem, mas também se pode tornar um parasita oportunista em pacientes com imunossupressão que vivem em ambientes urbanos, onde os suínos não são um factor de infecção (Schuster & Ramirez-Avila, 2008). Quanto à morfologia, o trofozoíto é ovalado, mede entre 30 e 150 µm de comprimento e entre 25 e 120 µm de largura, enquanto o quisto, forma de transmissão, é redondo, mede entre 45 e 65 µm de diâmetro, contendo vacúolos dentro de uma dupla parede grossa e transparente. Ambas as formas possuem um macronúcleo em forma de rim e um micronúcleo esférico (Frontera Carrión *et al.*, 2009b).

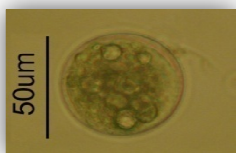


Figura 13. Quisto de *Balantidium coli*.  
Ampliação total de 300x.

(Fotografia original)

##### 3.3.1.2. Ciclo Biológico e Epidemiológico

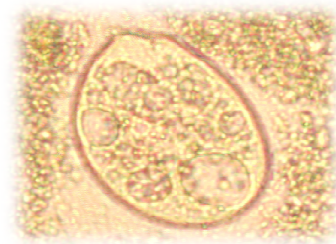
*B. coli* apresenta duas formas no seu ciclo de vida directo: o trofozoíto e o quisto, que costuma ser a forma infectante mais comum. Após a ingestão dos quistos através da comida ou água contaminada com fezes, e também por coprofagia, estes passam ao sistema digestivo; a



resistência da sua parede permite-lhes evitar a degradação quando contactam com o meio ácido do estômago, passando ao intestino onde ocorre o desenquistamento, dando lugar aos trofozoítos. Estes habitam no intestino grosso alimentando-se da flora bacteriana e de nutrientes intestinais e multiplicam-se por divisão binária ou por conjugação e troca de material genético. Devido à desidratação do conteúdo fecal, à medida que os trofozoítos progridem para a região terminal do tubo digestivo vão-se enquistando, principalmente no recto, passando já como quistos ao meio ambiente com as fezes. Também se pode observar um número considerável de trofozoítos nas fezes, que podem resistir vários dias no exterior, ou ainda enquistar no meio ambiente sendo o seu intervalo de temperatura de crescimento entre 20 e 40°C (Schuster & Ramirez-Avila, 2008).

Figura 14. Trofozoíto de *Balantidium coli*.  
Ampliação total de 300x.

(Fotografia gentilmente cedida pela  
Professora Doutora Eva María Frontera  
Carrión)



Este protozoário é um invasor secundário, que actua quando existem factores concomitantes, tais como o stress, a fome, a presença de outros parasitas como os da Família Eimeriidae, *Oesophagostomum* spp., *T. suis*, etc., a presença de bactérias como *E. coli*, *Salmonella* spp., etc., ou a presença de vírus. Segundo Tempelis e Lysenko em 1957 e Khamtsov em 1966, *B. coli* tem a capacidade de produzir a enzima hialuronidase, com acção lítica. Este facto, combinado com a actividade de propulsão do protozoário, permitem a sua penetração na mucosa e submucosa intestinal (Frontera Carrión *et al.*, 2009b). O porco é o hospedeiro específico de *B. coli*, de modo que a introdução numa exploração pode ocorrer por portadores assintomáticos, contudo também podem intervir o Homem, os cães, os gatos, os ratos, as baratas (Tatfeng *et al.*, 2005; Schuster & Ramirez-Avila, 2008) e também os javalis (Solaymani-Mohammadi *et al.*, 2004; Calero-Bernal *et al.*, 2008).

### 3.3.1.3. Situação Epidemiológica

*B. coli* tem uma ampla distribuição mundial. As investigações têm sido escassas, contudo, recentemente foi considerado um protozoário patogénico emergente (Garcia, 2008). Quanto à epidemiologia no javali e no porco doméstico, nas tabelas 15 e 16 estão enunciados, respectivamente, alguns estudos de interesse sobre a presença de *B. coli* nestes hospedeiros.

Tabela 15. Estudos de prevalência de *B. coli* no javali em alguns países.

País	Prevalência (%)	n	Referência
Espanha	13,4	717	García-González (2010)
Austrália	3	292	Hampton, Spencer, Elliot & Thompson (2006)
Irão	25	12	Solaymani-Mohammadi <i>et al.</i> (2004)
Japão	100	4	Nakauchi (1999)

Tabela 16. Estudos de prevalência de *B. coli* em suínos domésticos de alguns países.

País	Prevalência (%)	n	Referência
Dinamarca	57-100	-	Hindsbo <i>et al.</i> (2000)
China	47,2	3636	Weng <i>et al.</i> (2005)
Alemanha	60	514	Damriyasa & Bauer (2006)
Turquia	1,6	238	Uysal, Boral, Metiner & Ilgaz (2009)
Portugal	67	24*	Gião-Gomes (2009)
Espanha	70	689	García-Vallejo (1999)

\*explorações; n = número de suínos domésticos investigados.

Quanto à epidemiologia no Homem, este organismo, embora patogénico é de baixa virulência. A prevalência humana estimada é baixa, entre 0,02% a 1% (Esteban, Aguirre, Angles, Ash & Mas-Coma, 1998) mas é variável segundo a localização geográfica (Anargyrou *et al.*, 2003). O diagnóstico da infecção não é comum, facto que potencia a sua distribuição a nível mundial, havendo áreas de altas prevalências (Solaymani-Mohammadi *et al.*, 2004; Owen, 2005) devido, principalmente, aos padrões sanitários, às condições climáticas e aos costumes culturais. Os principais factores que levam à Balantidiose humana incluem o contacto próximo entre os porcos e os humanos (Sharma & Harding, 2003), a falta de eliminação adequada dos resíduos de tal forma que os excrementos dos suínos e dos humanos possam contaminar fontes de água potável e os alimentos, e condições climáticas de calor e humidade que favorecem a sobrevivência dos quistos (Schuster & Ramirez-Avila, 2008). No entanto, também se adaptam a hospedeiros com imunossupressão que vivem em ambientes urbanos (Anargyrou *et al.*, 2003; Vasilakopolou, Dimarongona, Samakovli, Papadimitris & Avlami, 2003; Ferry *et al.*, 2004; Cho, Shin & Park, 2006; Maino, Garigali, Grande, Messa & Fogazzi, 2010). Por outro lado, os residentes de lares, de orfanatos, de prisões e de instituições para doentes mentais são potenciais candidatos para a doença, tal como foi referido em 1941 por Young e Ham nos E.U.A e em

1997 por Giacometti e colaboradores na Itália, citados por Schuster & Ramirez-Avila (2008), estando este facto associado à falta de higiene resultante da coprofagia, geofagia, etc.

#### **3.3.1.4. Diagnóstico**

O diagnóstico clínico é realmente de escasso valor uma vez que os quadros clínicos são quase sempre assintomáticos. Quando existem sinais clínicos tais como, anorexia, febre ligeira, obstipação, diarreia com muco ou com sangue, emagrecimento e desidratação, estes podem ser confundidos com outros processos entéricos, sendo importante realizar o diagnóstico diferencial para as possíveis causas. Contudo, a visualização de um elevado número de trofozoítos móveis em fezes frescas, pode confirmar uma suspeita diagnóstica de Balantidiose aguda em casos de quadros diarreicos. As formas móveis são facilmente reconhecidas graças ao seu grande tamanho, à sua actividade e movimento característico de propulsão rotatória. Devido à elevada prevalência no efectivo suíno, é muito frequente observar, por rotina, quistos do parasita quando se utilizam técnicas coprológicas, especialmente a sedimentação ou a flutuação com soluções de alta densidade. Em caso de aparecimento de úlceras na mucosa intestinal, pode-se realizar um exame histológico das lesões para evidenciar os trofozoítos (Headley, Kummala & Sukura, 2008; Schuster & Ramirez-Avila, 2008; Frontera Carrión *et al.*, 2009b). Actualmente, é cada vez mais frequente a caracterização molecular de *B. coli* (Nilles-Bije & Rivera, 2010; Wang *et al.*, 2011; Ponce-Gordo *et al.*, 2011).

#### **3.3.2. *Sarcocystis* spp.**

##### **3.3.2.1. Etiologia**

A sarcocistiose é uma doença produzida por protozoários formadores de quistos pertencentes ao género *Sarcocystis*. Este parasita foi descrito pela primeira vez em 1843 por Miescher, ao observar uns pequenos quistos esbranquiçados na musculatura estriada de um rato. Em 1865, observaram-se estruturas semelhantes no músculo de um suíno e passados 34 anos foi-lhe dado o primeiro nome científico, *Sarcocystis miescheriana* (Dubey, Speer & Fayer, 1989). Em 1967, ao serem estudados os bradizoítos por microscopia electrónica comprovou-se que as estruturas internas destes zoítos eram muito semelhantes às de outros *Apicomplexa* como *Toxoplasma gondii* e *Eimeria* spp. (Fayer, 2004). As espécies que afectam os suínos são *S. miescheriana* (*S. suicanis*), *S. suihominis* e *S. porcifelis* (*suifelis*) e apresentam algumas diferenças entre si (Avapal, Sharma & Juyal, 2004). Destas três espécies, *S. suihominis* tem importância a nível da Saúde Pública (Dubey *et al.*, 1989; Li, Lin, Du & Qin, 2007). Assim, *S. miescheriana* forma quistos alargados, fusiformes, de 500 µm a 1,5 mm de comprimento, com projecções de 5 µm de tamanho dispostas em paliçada. A sua distribuição é mundial. O hospedeiro definitivo mais comum é o cão (*Canis familiaris*) mas também podem ser outros canídeos como a raposa (*Vulpes vulpes*) e o lobo (*Canis lupus*). Os quistos localizam-se preferencialmente na

musculatura esquelética e cardíaca dos suínos. *S. suis* é idêntica à espécie anterior quanto à localização e tamanho e diferente quanto às projecções digitiformes que são de maior tamanho. A sua distribuição está circunscrita à Europa e o hospedeiro definitivo é o Homem (*Homo sapiens*). Por último, *S. porcifelis* foi citada apenas uma vez na Rússia; o hospedeiro definitivo é o gato (*Felis catus*). Não se conhecem as características do quisto e duvida-se da validade desta espécie (Dubey *et al.*, 1989; Frontera Carrión *et al.*, 2009).



Figura 15. Quisto de *Sarcocystis* spp. no músculo cardíaco de suíno. Ampliação total de 24x.

(Fotografia original)

### 3.3.2.2. Ciclo Biológico e Epidemiológico

O ciclo de vida permaneceu desconhecido até 1970. É um ciclo evolutivo indirecto que segue o padrão comum de relação ecológica entre um predador, o H.D., e a presa, o H.I. (Fayer, 2004). Os H.D. eliminam pelas fezes esporocistos esporulados de 12-14 x 10 µm, depois de um período de prepatência de nove a 12 dias; por vezes, estes animais podem apresentar miosites graves causadas por este protozoário (Sykes *et al.*, 2011). Os suínos infectam-se por ingestão de esporocistos que contêm quatro esporozoítos cada um, que depois se libertam no aparelho digestivo destes animais, atravessam a mucosa intestinal e distribuem-se por via sanguínea até vários órgãos e tecidos, multiplicando-se pelo menos por três gerações assexuais. Entre os dias nove e 15 pós-infecção, os parasitas multiplicam-se no interior das células endoteliais dos vasos sanguíneos do fígado, coração, rins e linfonodos (primeira merogonia) e até ao dia 25 pós-infecção nos vasos dos pulmões, baço, pâncreas, esófago e intestino (segunda merogonia). Um terceiro ciclo sexual (terceira e sucessivas merogonias) ocorre nos linfócitos circulantes, resultando zoítos que penetram nas células musculares. Quistos imaturos com taquizoítos podem observar-se ao dia 30 pós-infecção, sendo estes de pequeno tamanho, entre 2-8 µm, enquanto os quistos maduros com bradizoítos observam-se aos dois meses. Como já foi referido anteriormente, os quistos maduros nos suínos podem chegar a medir até 1,5 mm. Os bradizoítos contidos nesses quistos são em forma de banana, de 12-15 x 6-9 µm. (Acha & Szyfres, 2003; Fayer, 2004; Frontera Carrión *et al.*, 2009).

Relativamente ao ciclo epidemiológico, os hospedeiros definitivos mais comuns das espécies de *Sarcocystis* que afectam os suínos são o cão e o Homem; estes infectam-se por ingestão de quistos com bradizoítos nos músculos do suíno. No caso dos canídeos, é frequente que se infectem em zonas rurais, onde é prática comum utilizar como suplemento da sua alimentação, restos de carcaças, ossos, pedaços de carne, etc., provenientes de matanças domiciliárias e

clandestinas. O Homem infecta-se preferencialmente a partir de enchidos e de outros produtos cárneos insuficientemente cozinhados, semicrus e crus, podendo dizer-se que a sua infecção depende mais dos hábitos alimentares e gostos culinários que de outros factores. Os bradizoítos dos quistos são libertados no intestino do H.D. e os zoítos livres passam para a lâmina própria subepitelial e diferenciam-se em micro e macrogametócitos. Depois da união de ambos, formam-se os ooquistos, de parede fina, indo estes esporular no interior do hospedeiro. Cada ooquisto tem dois esporocistos que têm, por sua vez, quatro esporozoítos. Normalmente, a parede fina dos ooquistos rompe-se e os esporocistos livres são libertados com as fezes para o meio ambiente. Finalmente, os suínos infectam-se preferencialmente pela ingestão destes esporocistos veiculados em alimentos vegetais, ração e água de bebida, sem descartar também a coprofagia (Avapal *et al.*, 2004; Fayer, 2004; Frontera Carrión *et al.*, 2009).

### 3.3.2.3. Situação Epidemiológica

A distribuição de *Sarcocystis* spp. é universal, sendo a Europa e a América as zonas mais prevalentes (Frontera Carrión *et al.*, 2009). São poucas as referências sobre esta protozoonose na Europa, nomeadamente em Portugal e Espanha. Para além disso, não nos podemos esquecer que a EFSA (2010), no seu relatório sobre *Sarcocystis* spp. estabelece a prioridade do controlo das espécies zoonóticas pertencentes ao género. Ainda assim, apesar da importante quantidade de carne de javali consumida, há pouca informação sobre zoonoses em animais selvagens, nomeadamente sobre sarcocistiose em javalis na região da *Extremadura*.

Quanto à epidemiologia no javali e no porco doméstico, nas tabelas 17 e 18 estão enunciados alguns estudos de interesse sobre a presença de *Sarcocystis* spp. nestes animais.

Tabela 17. Estudos de prevalência de *Sarcocystis* spp. no javali em alguns países.

País	Técnica	Prevalência (%)	n	Referência
Espanha ( <i>Extremadura</i> )	Digestão artificial trípica segundo Erber (1977) modificada por Serrano et al. (2010)	60,6	447	Calero-Bernal, Gamito-Santos, Frontera Carrión, García-González & Pérez-Martín (2008)
Espanha ( <i>Extremadura</i> )	Digestão artificial trípica segundo Erber (1977) modificada por Serrano et al. (2010)	72,7	910	Calero-Bernal (2012)
Croácia	Digestão artificial trípica	85	20	Goldová <i>et al.</i> (2008)
Lituânia	Exame microscópico	89,1	55	Malakauskas & Grikieniene (2002)

Tabela 18. Estudos de prevalência de *Sarcocystis* spp. em suínos domésticos de alguns países.

País	Técnica	Prevalência (%)	n	Referência
Espanha (Santiago de Compostela)	Triquinoscopia; Digestão péptica; Hemaglutinação indirecta.	43	100	Pereira & Bermejo (1988)
Espanha (Extremadura)	Triquinoscopia	67,2	689	García-Vallejo (1999)
Espanha (Zaragoza)	-	100	484	Sánchez Acedo et al. (1983) citado por Férrandez García, Mirón Pérez & Álvarez Porra (2007)
Alemanha	ELISA	29	12	Damriyasa <i>et al.</i> , (2004)
Índia	Digestão péptica	73,36	229	Avapal & Sharma (2004)

Quanto à epidemiologia no Homem, são poucas as pesquisas realizadas em grande escala em seres humanos conduzidas ao diagnóstico de *Sarcocystis* spp. Os dados de prevalência reflectem principalmente relatórios de casos e resultados de médicos, profissionais de Saúde Pública e cientistas com interesses específicos. Assim sendo, muitas das infecções não são notificadas (Fayer, 2004). A sarcocistiose afecta uma ampla faixa etária e a maioria dos casos foram encontrados em pessoas que vivem em regiões tropicais ou subtropicais. Dubey *et al.* (1989) referem que dos 46 casos notificados, a maioria eram de países tropicais e subtropicais na Ásia e Sudoeste da Ásia. De 46 casos baseados em achados histológicos, um é proveniente da China, dois da Índia, dois de origem indeterminada, quatro de África, quatro da Europa, quatro dos Estados Unidos, cinco da América Central e do Sul, 11 da Índia e 13 do Sudoeste Asiático. Arness, Brown, Dubey, Neafie & Granstrom (1999) descreveram um surto de miosite eosinofílica causado por parasitismo accidental por *Sarcocystis* spp., que envolveu sete de 15 militares dos EUA que operavam numa zona rural da Malásia. Um estudo seroepidemiológico efectuado na Malásia Ocidental constatou que cerca de 20% de 243 pessoas tinham anticorpos contra *Sarcocystis* spp. (Thomas & Dissanaik, 1978 citado por Fayer, 2004). A sarcocistiose intestinal em humanos foi encontrada mais frequentemente na Europa comparativamente a outros continentes (Dubey *et al.*, 1989). Das amostras fecais de crianças analisadas na Polónia e na Alemanha, 10,4 e 7,3 foram positivos a *Sarcocystis* spp., respectivamente. De 1228 trabalhadores do Vietname que trabalharam na Eslováquia entre 1987 e 1989, 14 deles (1,1%) foram positivos a este parasita (Straka, Skraciková, Konvit, Szilágyiová & Michal, 1991). No Tibete, *Sarcocystis* spp. foi detectado em 42,9% da carne de mercado e *S. suis* foi encontrado em fezes de 0 a 7% de um total de 926 pessoas (Yu, 1991). Na Alemanha, Bussières (1994) refere uma taxa de 2% em humanos, enquanto 3-30% dos suínos apresentavam quistos de *S. suis*. O facto de as pessoas se alimentarem de carne de porco crua ou mal cozinhada

contendo quistos com bradizoítos de *S. suis* resultou em sarcocistiose intestinal (Li *et al.*, 2007), mas por outro lado, a carne de muitos répteis, aves e espécies de mamíferos silvestres portadoras de *Sarcocystis* spp. é ingerida em várias partes do mundo com consequências desconhecidas e, portanto, existem muitas fontes potenciais mas desconhecidas de sarcocistiose intestinal humana (Fayer, 2004). Os esporocistos têm uma longevidade de cerca de um ano em ambiente húmido, que se reduz para dois ou três meses em meio seco e resistem a temperaturas de -20°C durante 48 horas; têm também grande resistência aos desinfectantes, sendo que apenas amónia a 10% tem efeito letal sobre os esporocistos (Solaymani-Mohammadi & Petri, 2006).

#### **3.3.2.4. Diagnóstico**

O diagnóstico clínico da forma aguda e crónica é muito difícil uma vez que a maioria das infecções em suínos são assintomáticas (Solaymani-Mohammadi & Petri, 2006). A presença de mortes num grupo de animais poderia ajudar na elaboração de um diagnóstico, através da necropsia e da avaliação das lesões, que seriam, na maioria dos casos, petéquias ou equimoses na superfície da serosa do estômago, coração, fígado e rins, e também hemorragias moderadas ou graves na superfície da serosa do intestino delgado e grosso (Avapal *et al.*, 2004). A presença de *Sarcocystis* spp. em carne de suíno pode ser detectada por observação macroscópica directa dos parasitas através de triquinoscopia ou por observação microscópica através do exame histopatológico. Assim, no diagnóstico por triquinoscopia visualizam-se os quistos orientados na direcção longitudinal das fibras musculares e os bradizoítos livres transportados por líquidos tissulares podem ver-se entre as placas de triquinoscopia a maior aumento; por outro lado, no exame histológico, a amostra é fixada e posteriormente corada com hematoxilina-eosina, sendo possível visualizar lesões como hemorragias em vários órgãos como o coração e a língua, e ainda atrofia das fibras musculares (Avapal *et al.*, 2004). Os quistos podem ainda ser observados com mais eficiência, por microscopia, depois da digestão péptica ou trípica de carne infectada (Frontera Carrión *et al.*, 2009; Serrano *et al.*, 2010). O teste ELISA, utilizando *S. miescheriana* como antígeno (Damriyasa *et al.*, 2004), o teste de hemaglutinação indirecta, utilizando antígeno de *S. gigantea* (Pereira & Bermejo, 1988), o teste de imunofluorescência indirecta (Moon, 1987) e o PCR (Caspari, Grimm, Kühn, Caspari & Basso, 2011) também se utilizaram para o diagnóstico de sarcocistiose em suínos.

#### **3.3.3. *Toxoplasma gondii***

##### **3.3.3.1. Etiologia**

Segundo a Organização Mundial de Saúde, a Toxoplasmose é uma das doenças parasitárias mais difundidas do planeta, cujo agente etiológico, *Toxoplasma gondii*, pode afectar a maioria das espécies de sangue quente. A complexidade da sua epidemiologia, o facto de ter uma grande variedade de espécies sensíveis, a sua patogenia e o seu carácter zoonótico, fazem com que seja



interessante o seu estudo. Em muitas partes do mundo, como é o caso da Europa e EUA, os suínos foram considerados como a maior causa de aquisição da toxoplasmose entre a população humana, daí o interesse desta espécie como objecto de estudo. Esta afirmação baseia-se no facto de que se encontraram quistos tissulares na maior parte dos tecidos destes animais. *T. gondii* foi descoberto pela primeira vez no ano 1908 por Nicolle e Manceaux no Instituto Pasteur de Tunes, num pequeno roedor africano, *Ctenodactylus gundi*, que era utilizado como animal de experimentação nesse laboratório. Ao constatar um ano mais tarde de que se tratava de uma nova espécie de protozoário, denominaram-no *Toxoplasma gundi*. O nome *Toxoplasma*, do grego *Toxo* = arco, *plasma* = forma, foi assim denominado pela sua forma tipicamente descrita de meia-lua ou de gomo de laranja e também pelo hospedeiro em que foi descoberto. O género *Toxoplasma* compreende uma só espécie, *T. gondii*, de distribuição cosmopolita, cuja presença varia segundo as regiões climáticas, a presença ou ausência de felinos e a susceptibilidade de todas as espécies animais homeotérmicas. Howe & Sibley (1995) descreveram três linhas clonais, tipo I, II e III. Na actualidade descreve-se uma grande variabilidade de genótipos: mistos (Aspinall, Marlee, Hyde & Sims, 2002), recombinantes (Calero Bernal *et al.*, 2011), atípicos (Chen *et al.*, 2011).



Figura 16. Bradizoítos de *Toxoplasma gondii* a formar um quisto cerebral. Ampliação total de 200x.

(Fotografia: <http://www.telmeds.org>)

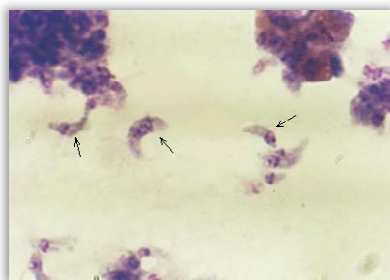


Figura 17. Taquizoítos de *Toxoplasma gondii*. Ampliação total de 800x.

(Fotografia: <http://www.ufrgs.br>)



Figura 18. Oocisto de *Toxoplasma gondii*. Ampliação total de 2500x.

(Fotografia: <http://www.pharmacies-online.com>)

### 3.3.3.2. Ciclos Biológico e Epidemiológico

*T. gondii* atravessa três fases ou estádios diferenciados ao longo do seu ciclo de vida: taquizoítos, nos pseudoquistos; bradizoítos, nos quistos tissulares; e esporozoítos, nos ooquistos.



O termo taquizoíto, do grego *tachýs* = rápido, foi denominado por Frenkel (1972); compreende o estadio de multiplicação rápida por repetidas endodiogénias, ocorrendo em qualquer célula do hospedeiro intermediário e definitivo, no entanto, neste último, não se multiplica nas células do epitélio intestinal. No interior das células hospedeiras, os taquizoítos em grupos de 8 a 32, constituem os chamados pseudoquistos, uma vez que carecem de uma membrana bem definida que os rodeia; medem de 4 a 8 µm x 2 a 4 µm, têm forma de arco ou meia-lua, com o extremo anterior agudo e o posterior arredondado. Depois do contacto inicial com qualquer tipo de célula, *T. gondii* alinha-se com a sua superfície. Quando o parasita está dentro do vacúolo, adquire forma ovóide e começa a dividir-se por sucessivas endodiogénias, até a célula ficar totalmente repleta. Em infecções intensas e agudas, podem encontrar-se formas livres no sangue e exsudado peritoneal (Dubey & Beattie, 1988). Ainda, durante o estado agudo da infecção, o taquizoíto pode estar presente na saliva, secreção nasal, urina, mucosa vaginal, leite (Chiari & Neves, 1984), sémen (Dubey, 1980), assim como numa ampla variedade de tecidos. O termo bradizoíto, do grego *bradýs* = lento, foi denominado igualmente por Frenkel (1972), para definir as formas de multiplicação lenta que se encontram no interior dos quistos tissulares. Um quisto tissular é um grupo de bradizoítos envolvido por uma membrana parasitária bem definida no interior de uma célula hospedeira. Podem ser esféricos, subesféricos ou ter a forma das células que parasitam; podem alcançar os 100 µm e conter centenas ou milhares de bradizoítos que se reproduzem lentamente por endodiogénia, pelo que o tamanho do mesmo aumenta progressivamente, sendo o normal entre 40 e 50 µm. Podem localizar-se em qualquer órgão, sendo muito frequentes no cérebro, olho e músculos cardíaco e esquelético (Dubey & Beattie, 1988) e são a forma latente de *T. gondii* no hospedeiro. A membrana impede a saída de metabolitos do parasita para o exterior e, provavelmente, os quistos intactos não provocam nenhum dano e podem persistir durante toda a vida do hospedeiro sem causar uma resposta inflamatória (Dubey, Lindsay & Speer, 1998). Os esporozoítos são o terceiro estadio infectante. Desenvolvem-se no interior dos ooquistos e são o resultado do ciclo sexual do parasita nas células intestinais do hospedeiro definitivo. São eliminados pelos felídeos através das fezes, constituindo uma importantíssima fonte de infecção (Jones & Dubey, 2010). Os ooquistos são esféricos ou subesféricos, de 11 a 14 x 9 a 11 µm, com 2 esporocistos com 8 esporozoítos no total, ou seja, de tipo isosporóide, e rodeados por uma parede com dupla capa. A esporulação tem lugar no meio ambiente, um a cinco dias depois da saída, segundo as condições climáticas, adquirindo conformação geralmente elipsóide de 11 a 13 µm, com duas massas arredondadas, os esporoblastos; estes alargam-se e transformam-se em duas formas elipsóides, que carecem de corpo de *Stieda*, chamados esporocistos.

O ciclo epidemiológico é indirecto, eminentemente heteroxeno, no qual intervém um hospedeiro definitivo, que é necessariamente um mamífero da família Felidae e um hospedeiro intermediário, com pouca especificidade, podendo ser a maior parte dos mamíferos, incluindo

também os felídeos e ainda as aves, daí a sua importância epidemiológica. A fase enteroepitelial, de tipo coccidiano, tem lugar nas células intestinais do hospedeiro definitivo e a fase extra-intestinal, ocorre nos hospedeiros intermediários e em tecidos não entéricos do definitivo. Os gatos eliminam grande quantidade de ooquistos para o meio ambiente depois da ingestão de qualquer uma das três formas infectantes, mas a prepatencia depende do estadio ingerido (Dubey, 2006); assim sendo, são três a cinco dias quando se trata de bradizoítos (o mais frequente), entre 19 e 21 dias quando são taquizoítos e 21 a 24 dias se se deve a esporozoítos. Os gatos infectados eliminam ooquistos nas fezes durante um período de uma a três semanas, sendo do quinto ao oitavo dia, os de máxima difusão. Na fase enteroepitelial, depois da ingestão de quistos tissulares por parte do gato, libertam-se os bradizoítos, que penetram no interior das células epiteliais do intestino e começam a esquizogonia ou merogonia, que é uma fase de multiplicação assexuada. Alguns merozoítos transformam-se em gâmetas masculinos e femininos, ocorre a gametogonia ou etapa de reprodução sexual, que resulta na formação de ooquistos; estes, por sua vez, saem com as fezes ao meio ambiente, ocorrendo a esporogonia no meio externo. O ooquisto resultante pode resistir, uma vez esporulado, se as condições ambientais são apropriadas, entre um a 1,5 anos no meio ambiente. Na fase extra-intestinal, os ooquistos esporulados ao serem ingeridos por qualquer hospedeiro intermediário, incluindo os felídeos, libertam os seus esporozoítos no intestino, que penetram na mucosa intestinal e são capturados por células do Sistema Retículo Endotelial (SRE) mais concretamente por macrófagos, na lâmina própria, onde se reproduzem rapidamente por um processo de endodiogenia, formando pseudoquistos, que contêm no seu interior muitos taquizoítos (Jones & Dubey, 2010). Os macrófagos, ou os próprios taquizoítos que se libertam depois da ruptura destes, são disseminados pelo sistema circulatório e em poucas horas chegam aos linfonodos e a diversas vísceras, parasitando principalmente hepatócitos e células do miocárdio, onde formam colónias terminais ou agregados. Os taquizoítos libertados pela ruptura celular, alteram a velocidade de multiplicação quando se potencia ou aumenta o estado imunitário; deste modo, tentam escapar à resposta imune do hospedeiro intermediário frente a células musculares ou do sistema nervoso central, por exemplo. Nestas reproduzem-se mais lentamente, formando quistos tissulares, repletos de bradizoítos rodeados por uma membrana parasitária resistente, constituindo a etapa crónica da doença (Dubey, 2006). Os bradizoítos e os taquizoítos são infectantes para os hospedeiros, definitivo e intermediário. No caso de ser um felídeo, dá-se apenas o ciclo entérico e se se trata de outro hospedeiro repete-se o ciclo extra-enterico.

### **3.3.3.3. Situação Epidemiológica**

*T. gondii* tem uma ampla distribuição mundial. Estima-se que entre 15 a 85% da população humana tem infecções crónicas. Estas taxas tão elevadas podem dever-se aos altos níveis de

prevalência em animais domésticos e selvagens que actuam como reservatório e/ou fonte de contágio. Realizaram-se estudos simultâneos em ambos os colectivos, silvestre e doméstico, para determinar o grau de influência de um e de outro (Williamson, Williams & Sharman, 1980; Carne *et al.*, 2002; Demar, Ajzenberg, Serrurier, Dardé & Carne, 2008; Dubey *et al.*, 2008; Fornazari *et al.*, 2009; Panadero *et al.*, 2010; Jokelainen *et al.*, 2010; De Craeye *et al.*, 2011). Quanto à epidemiologia no javali e no porco doméstico, nas tabelas 19 e 20 estão enunciados, respectivamente, alguns estudos de interesse sobre a presença de *T. gondii* nestes animais.

Tabela 19. Estudos de prevalência de *T. gondii* no javali em alguns países da Europa.

País	Técnica	Prevalência (%)	n	Referência
Espanha	ELISA	23,88	2881	Calero-Bernal <i>et al.</i> (2011)
	PCR	14,75	61	
França	MAT	0,33-0,55	1399	Richomme <i>et al.</i> (2010)
Holanda	ELISA	24,4	973	Opsteegh, Swart, Fonville, Dekkers & Van der Giessen (2011)
Portugal	MAT	100	8	Lopes, Sargo, Rodrigues & Cardoso (2011)

Tabela 20. Estudos de prevalência de *T. gondii* nos suínos domésticos em alguns países da Europa.

País	Técnica	Prevalência (%)	n	Referência
Alemanha	ELISA	4,1	4999	De Buhr, Ludewig & Fehlhaber (2008)
Espanha	ELISA	22,64	73	Calero-Bernal <i>et al.</i> (2011)
	PCR	61,64	73	
Holanda	ELISA	10,9	406	Kijlstra <i>et al.</i> (2008)
Itália	ELISA	16,3	1681	Villari, Vesco, Petersen, Crispo & Buffolano (2009)
Portugal	MAT	15,6	333	De Sousa <i>et al.</i> (2006)

Quanto às vias de contágio e factores de risco em explorações suínas, os suínos podem adquirir a toxoplasmose através de diferentes vias. Por um lado, pela ingestão de alimentos ou de água contaminados com ooquistos esporulados procedentes de fezes de gatos infectados; por outro lado, a partir de tecidos de animais contaminados com bradizoítos, e finalmente podem infectar-se na etapa fetal através da placenta materna pelos taquizoítos. Destas vias, parece que a principal fonte de infecção são os ooquistos eliminados pelo gato. De facto, alguns estudos sero-epidemiológicos (Meerburg, Van Riel, Cornelissen, Kijlstra & Mul, 2006) demonstram que a toxoplasmose suína é maior em explorações onde convivem gatos e suínos. Igualmente, não se descarta a entrada de roedores nas instalações como fonte de infecção (Kijlstra *et al.*, 2008).

Estudos epidemiológicos foram efectuados no sentido de identificar factores de risco de toxoplasmose em suínos; assim, a fonte de água, a altitude, o número de suínos na exploração, e idade destes foram reconhecidos por Villary *et al.* (2009), na Itália, como factores relevantes; Kijlstra *et al.* (2008) demonstraram, através do controlo de roedores, que estes animais são uma fonte de infecção também importante; Hill, Haley, Wagner, Gamble & Dubey (2009) dizem que, para além do controlo de roedores, também são de extrema importância os métodos de recolha e destruição de despojos de suínos das explorações. Quanto à epidemiologia no Homem, a Toxoplasmose considera-se uma zoonose maior, de tipo 4, classificada como uma ciclo-zoonose e também uma trofozoonose, para referir-se àquelas doenças cuja via de contágio é através do alimento (*trophê* = alimento) Euzeby (2000). Gallego-Berenguer, Saavedra-Matiz & Gómez-Marín, (2006) afirma que entre 30 e 40% da população humana estaria afectada. Outros estudos demonstraram que entre 50 e 80% da Europa continental possui anticorpos contra o parasita (Barriga, 1997). Em França, este parasita é o agente infeccioso de origem alimentar, que produz o terceiro número de hospitalizações, atrás de *Salmonella* spp. e *Campylobacter* spp. (Vaillant *et al.*, 2005). Assim, as principais fontes de contágio e os factores de risco para o Homem são os seguintes: o consumo de carnes frescas e curadas contaminadas/infectadas, ou seja, veiculadoras de quistos tecidulares com bradizoítos, de borrego, vitela, porco e caça ou cavalo; ingestão de ooquistos esporulados eliminados pelos felídeos; contacto com zoítos intra ou extracelulares expulsos com abortos e membranas fetais; a transmissão congénita ou diaplacentária; por ectoparasitas que actuam como vectores; por transplantes e transfusões, esporadicamente; não excluindo, ainda, os acidentes de laboratório (Herwaldt *et al.*, 2001). De um modo geral, diversos estudos como, por exemplo, o de Boyer *et al.* (2005), determinaram que o principal factor de risco e a fonte de infecção por *T. gondii* para as mulheres gestantes na Europa e Estados Unidos, é o consumo de carne de borrego, porco e caça pouco cozinhada. Contudo, não devemos esquecer que se detectaram taquizoítos em fluídos corporais, como saliva, urina, lágrimas, sémen e leite de ovinos, caprinos, bovinos e camelídeos (Camossi *et al.*, 2010), causadores de numerosos surtos registados. A toxoplasmose também é uma doença profissional ou relacionada com actividades de risco como as que têm os caçadores (Deutz *et al.*, 2003), os Médicos Veterinários (Shuhaiber *et al.*, 2003) ou magarefes (Dias *et al.*, 2005). Com respeito à casuística no Homem, na tabela 21 estão enunciados alguns resultados de seroprevalência na Europa. Por último, na tabela 22, estão enunciados alguns estudos sero-epidemiológicos efectuados em Portugal.

Tabela 21. Dados publicados sobre seroprevalência de *T. gondii* no Homem.

País	Seroprevalência (%)	Referência
França	3,3	Villena <i>et al.</i> (2010)
Holanda	26	Hofhuis <i>et al.</i> (2011)
Itália	35,8	Tomasoni <i>et al.</i> (2010)
Espanha	Extremadura 60	Sánchez-Murillo (2001)
	Albacete 21	Bartolomé-Álvarez, Martínez-Serrano, Moreno-Parrado, Lorente-Ortuño & Crespo-Sánchez (2008)
	Autóctones 14,4 Imigrantes 44	Sampedro <i>et al.</i> (2010)
	Aragón 35,4	Cebollada-Sánchez <i>et al.</i> (2011)
Portugal	24,4	Lopes <i>et al.</i> (2011a)

Tabela 22. Dados publicados sobre seroprevalência de *T. gondii* em Portugal.

Animais	Seroprevalência (%)	Referência
Galinhas ( <i>Gallus domesticus</i> )	0,27	Dubey <i>et al.</i> (2006)
Pombos urbanos ( <i>Columbia livia</i> )	4,6	Waap, Vilares, Rebelo, Gomes & Angelo (2008)
Gatos ( <i>Felis silvestris</i> )	3,9 (títulos de 20)	Lopes, Cardoso & Rodrigues (2008)
	23,7 (títulos de 40)	
	72,4 (títulos ≥800)	
Aves silvestres	50	Lopes, Sargo, Rodrigues & Cardoso (2010)
Mamíferos silvestres	90	
Cães ( <i>Canis lupus</i> )	38	Lopes <i>et al.</i> (2011)

### 3.3.3.4. Diagnóstico

Com respeito aos métodos de diagnóstico, existem os indirectos e os directos.

Os métodos indirectos, de um modo geral, baseiam-se na demonstração de anticorpos específicos originados na resposta imunitária do hospedeiro contra o agente patogénico. A prova de Sabin e Feldman ou *Dye test* (DT) é muito sensível, ainda que com limitações (Berdal, Olsvik, Almlid, Larsen & Lorentzen-Styr, 1983), tem uma grande especificidade, pelo que continua a utilizar-se como referência para avaliar a eficácia dos outros métodos serológicos (Botero & Restrepo, 1998). Contudo, mesmo sendo um método de referência, a sua utilização está a diminuir porque implica muito maneo e alto risco para os manipuladores, uma vez que é necessária a produção regular de parasitas e a utilização viva destes (Martín-Hernández & García-Izquierdo, 2003). A prova de aglutinação modificada (MAT), desenhada por Fulton & Turk (1959), foi padronizada para estudos epidemiológicos por Desmonts & Remington (1980). Tem uma alta sensibilidade e uma boa especificidade, e os seus resultados são semelhantes aos obtidos com o DT (Dubey *et al.*, 1995). O método ELISA, desenhado por Engvall & Perlmann (1971), foi adaptado a praticamente todas as espécies animais (Van der Giessen *et al.*, 2007; Opsteegh *et al.*, 2011). Existem numerosos sistemas de ELISA em que as principais diferenças

se devem ao antígeno utilizado e à enzima conjugada no método de detecção. Esta prova pode ser utilizada para demonstrar tanto antígeno, métodos directos, como anticorpos, métodos indirectos. Apresenta vantagens, tais como a ausência de risco de infecção durante a manipulação, economia, automatização, repetibilidade, simplicidade de interpretação de resultados, possibilidade da sua aplicação em estudos epidemiológicos, entre outras (Gamble, Dubey & Lambillote, 2005; Hill, Chirukandoth, Dubey, Lunney & Gamble, 2006); por outro lado, os resultados são totalmente objectivos frente à necessidade de interpretação que têm outras técnicas como MAT ou DT (Hill *et al.*, 2006). Todo o indicado juntamente com a elevada sensibilidade e especificidade, segundo os numerosos estudos realizados com esta técnica, na detecção, tanto de IgG como de IgM (Lappin, Greene, Prestwood, Dawe & Tarleton, 1989), fizeram que seja valiosa no diagnóstico de diversas doenças parasitárias. O ELISA que utiliza o antígeno SAG1 ou P30 (Burg, Perelman, Kasper, Ware & Boothroyd, 1988), que é o principal antígeno de superfície dos taquizoítos e é considerado um dos mais importantes nos testes de diagnóstico, graças à sua imunodominância e falta de reactividade cruzada com outros microrganismos (Petersen & Liesenfeld, 2007). Dubey *et al.* (1995) assinalaram uma sensibilidade e especificidade para ELISA de 72,9% e 85,9%, respectivamente. Outros estudos em suínos mostraram resultados muito interessantes quanto à alta sensibilidade e especificidade da ELISA, como Gamble *et al.* (2005), Hill *et al.* (2006) e Mainar-Jaime & Barberán (2007). Relativamente aos métodos directos, pode-se reconhecer *T. gondii* por histopatologia, através do exame microscópico de cortes histológicos, geralmente corados com Hematoxilina-Eosina, como acontece em trabalhos como os de Bermúdez, Faílde, Losada, Nieto & Quiroga (2009) e Benavides *et al.* (2011). Quanto ao PCR, este consiste na amplificação de uma fracção específica de ADN de *T. gondii* a partir de um molde original utilizando a enzima polimerase. Desde que foi desenhado por Mullis (1983) que tem um importante impacto na investigação. Trata-se de um método muito específico mas também sensível, capaz de detectar quantidades ínfimas de ADN parasitário. Actualmente, a técnica possui numerosas variantes, desde a directa, *nested* (nPCR), a tempo real (RT-PCR), múltiplo, etc. Esta técnica, com as suas múltiplas variantes é utilizada na detecção de *T. gondii* em numerosas espécies animais, incluindo o homem (Esteban-Redondo & Innes 1998; Owen, Clarkson & Trees, 1998; Jauregui, Higgins, Zarlenga, Dubey & Lunney 2001; Hill *et al.*, 2006; Montoya, Miró, Mateo, Ramírez & Fuentes 2009). Hill *et al.* (2006) estabeleceu uma reduzida sensibilidade (12,82%) de PCR relativamente aos métodos imunológicos. Desenvolveram-se variantes do protocolo convencional, como a *nested* PCR, na qual se realizam duas amplificações consecutivas (PCR sequencial interna); na primeira utilizam-se uns oligonucleótidos mais extrínsecos, de maior tamanho, que originam um produto primário; seguida de uma segunda reacção, que utiliza o produto de amplificação primário como ADN molde, usando uns oligonucleótidos que reconhecem uma sequência interna, mais reduzida, dentro do produto de amplificação primário, dando lugar a outro

secundário mais curto. Com a segunda amplificação consegue-se aumentar a sensibilidade e especificidade da técnica diagnóstica, sendo utilizada em laboratórios especializados de detecção de *T. gondii* a partir de secreções, fluídos e biopsias procedentes de humanos (Fuentes, 1999; Alfonso *et al.*, 2009) ou animais (Murphy *et al.*, 2007; Montoya *et al.*, 2009). Desenvolveu-se ainda o método de PCR em tempo real, no qual os processos de amplificação e detecção se produzem de maneira simultânea; através da fluorescência pode-se quantificar, durante a amplificação, o ADN sintetizado e registar a cinética da reacção de amplificação (Costa, 2004). Ainda que de modo pouco frequente, também se utilizam estas técnicas para detecção de *T. gondii* em animais (Montoya, Miró, Blanco & Fuentes 2010; De Craeye *et al.*, 2011).

### **3.3.4. *Echinococcus* spp.**

#### **3.3.4.1. Etiologia**

A hidatidose-equinococose é uma zoonose causada por cestodos do género *Echinococcus* que pertencem à Família Taeniidae. A infecção causa morbilidade e mortalidade em humanos e importantes perdas económicas na pecuária (Budke, Deplazes & Torgerson 2006). O termo Equinococose é reservado para a infecção no intestino delgado do hospedeiro definitivo pelo parasita adulto, enquanto o termo Hidatidose é referido para a doença causada pelo estado larvar do parasita em diferentes tecidos dos hospedeiros intermediários. Actualmente, segundo alguns autores, a análise genética revelou variabilidade suficiente para permitir a criação de espécies diferentes em vez de estirpes (Tappe, Kern, Frosh & Kern, 2010). Assim sendo, aceitam-se hoje em dia nove espécies que abarcam algumas estirpes. *E. granulosus* senso estrito que contém as estirpes G1, G2 e G3; *E. equinus* com a estirpe G4; *E. ortleppi* com a estirpe G5; *E. canadensis* com as estirpes G6, G7 (estirpe suína), G8, G9 e G10; e, por último, as espécies *E. felidis*, *E. multilocularis*, *E. oligarthrus*, *E. shiquicus* e *E. vogeli* (Thompson, 2009; Nakao *et al.*, 2010; Tappe *et al.*, 2010 e Knapp *et al.*, 2011). É ainda de acrescentar que cada estirpe se adaptou de forma mais intensa para alguns hospedeiros, deste modo, quando uma estirpe contacta com um hospedeiro intermediário no qual não se especializou, diminui a fertilidade, isto é, diminui a percentagem de quistos com protoescólex, sendo menor também a viabilidade, ou seja, a percentagem de quistos com protoescólices vivos e, por sua vez, a infectividade no hospedeiro intermediário também diminui (Frontera Carrión *et al.*, 2009f). O cestodo adulto, *E. granulosus*, mede entre 2 e 7 mm de comprimento e apresenta o escólex, o pescoço e o estróbilo. O escólex contém uma dupla coroa de ganchos e quatro ventosas no rostelo como estruturas de fixação. O pescoço é a continuação do escólex e a zona de crescimento dos proglótes. O estróbilo consiste entre 3 a 6 segmentos ou proglótis; estes amadurecem progressivamente para a extremidade posterior e o último geralmente é grávido contendo ovos; assim, o primeiro proglótes é imaturo, o segundo é maduro e o terceiro é ovígero onde predomina o aparelho reprodutor feminino, com



200-800 ovos, e que se elimina com uma periodicidade de 14 dias. Os ovos medem 30-40 µm de diâmetro, com um embrióforo grosso, estriado e escuro e que contém no seu interior a oncosfera ou embrião hexacanto, que por sua vez, contém três pares de ganchos no seu interior. O metacestode, fase larvar, ou quisto hidático, *E. polymorphus*, consta: de uma camada adventícia, mais externa, que não é de natureza parasitária uma vez que é formada a partir do hospedeiro intermediário; uma camada laminar, que é acelular, de estrutura semelhante à quitina e que protege o metacestodo contra o sistema imune do hospedeiro; uma camada germinativa, que é um sincício celular que se forma por reprodução assexuada de vesículas filhas e netas dentro do quisto, idênticos ao quisto mãe, e que corresponde a uma fora de resistência, ou cápsulas prolíferas; o protoescólex contém ganchos e quatro ventosas, forma-se dentro das cápsulas prolíferas que apenas estão presentes em quistos férteis, cada um deles tem o potencial para evoluir, por reprodução sexuada, a um indivíduo adulto; por último, o líquido hidático, contém produtos de excreção, sais, enzimas, etc., tem um alto poder antigénico, alérgico, tóxico e imunossupressor e é nele onde se encontra a areia hidática, composta por cápsulas prolíferas e protoescólices que flutuam livres no líquido hidático, dando um aspecto arenáceo em sedimentação (Frontera Carrión *et al.*, 2009f; Moro & Schantz, 2009).

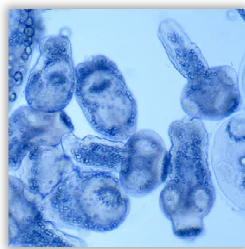


Figura 19. Protoescólices.

(Fotografia: <http://www.ebah.com.br>)



Figura 20. Ovo de *Echinococcus granulosus*. Ampliação total de 300x.

(Fotografia: <http://picasaweb.google.com>)



Figura 21. Adulto de *Echinococcus granulosus*. Ampliação total de 10x.

(Fotografia: <http://http://www.flickr.com>)



### 3.3.4.2. Ciclo Biológico e Epidemiológico

O ciclo biológico é indirecto onde intervém um H.D., principalmente o cão, e um H.I., neste caso o suíno. No intestino delgado do cão, preferencialmente no duodeno, estão localizados os adultos de *E. granulosus*, que começam a disseminar os segmentos grávidos e os ovos do cestodo às 6 ou 7 semanas de infecção (Moro & Schantz, 2009). Quando estes são ingeridos pelo H.I., através da acção da bÍlis, do movimento dos ganchos e das secreções lÍticas libertam-se as oncosferas (Siracusano, Delunardo, Teggi & Ortona, 2012); estas penetram no intestino delgado, acedem pelos tubos quilÍferos ou vénulas ao sistema porta alcançando os sinusóides hepáticos onde ficam retidos, formando os quistos hidáticos hepáticos; por outro lado, podem seguir a corrente sanguínea e chegar aos capilares pulmonares, formando quistos hidáticos pulmonares, ou ainda distribuírem-se a qualquer outro órgão se passarem por este segundo filtro (Infante Gil, 2005). Uma vez estabelecido, o parasita cresce a uma velocidade variável em função da estirpe e da espécie de H.I. (Frontera Carrión *et al.*, 2009f). Se for ingerido por um H.I. inadequado os protoescólex não se desenvolvem e formam-se quistos hidáticos inférteis/estéreis. Estes hospedeiros são considerados acidentais, ou seja, eles podem ser infectados pelos metacestodes, no entanto, esse estadio não se torna fértil ou os hospedeiros não interagem com outros animais presentes no ciclo de vida. Em ambos os casos não há transmissão do parasita e o ciclo não se completa (Eckert *et al.*, 2001). A Hidatidose secundária ocorre quando um novo quisto se desenvolve noutro órgão após a ruptura do primeiro (Eckert *et al.*, 2001). A existência de um quisto durante vários anos demonstra que este evita a resposta imunitária graças à mudança antigénica durante as suas fases evolutivas, mimetismo e mascaramento antigénico, cobertura do parasita com anticorpos bloqueadores, captação do complemento, libertação de antigénios circulantes, modulação da imunidade celular e ainda por barreiras mecânicas (Frontera Carrión *et al.*, 2009f).

O ciclo biológico é fechado quando um quisto com protoescólexes viáveis presentes em tecidos do H.I. é ingerido pelo H.D.; os protoescólexes desenvolvem-se até ao estadio de cestodos adultos, devido à acção da pepsina no estômago, ao aumento da temperatura e às secreções biliares, encontrando-se no quarto anterior do intestino delgado onde migram activamente para as criptas de Lieberkún e atacam a mucosa intestinal (Eckert *et al.*, 2001; Moro & Schantz, 2009). Relativamente aos ciclos epidemiológicos, classicamente foram descritos três ciclos que estão ligados entre si: o ciclo selvagem ou paratrópico, o ciclo doméstico, rural ou sinantrópico e o ciclo urbano, nunca fechado e dependente do doméstico. Hoje em dia sabe-se que podem coexistir vários ciclos sobrepostos em distintos graus ou independentes entre si (Togerson & Budke, 2003; Frontera Carrión *et al.*, 2009f). O ovo resiste a um amplo intervalo de temperaturas podendo ser infecciosos até um ano ou mais se as condições de humidade e temperatura forem as adequadas (Gemmell, 2001; Thevenet *et al.*, 2005). São muito sensíveis à dessecação sendo destruídos após 4 dias a uma humidade de 25% e em 1 dia após 0%. As

temperaturas extremas também podem destruí-los, ocorrendo a morte em 5 minutos a 60-80° C (Eckert *et al.*, 2001).

#### **3.3.4.3. Situação Epidemiológica**

Esta doença tem distribuição mundial com regiões endémicas em muitos países da bacia Mediterrânea, Norte e Este de África, Oeste e Centro da Ásia, China, América do Sul e Austrália (Seimenis, 2003; Jenkins, Romig & Thompson, 2005; Romig, Dinkel & Mackenstedt, 2006), com excepção de alguns locais como a Gronelândia e áreas confinadas como ilhas onde foram aplicados programas intensivos de controlo (Eckert & Deplazes, 2004). São vários os factores responsáveis pela manutenção da infecção: sistemas de produção pecuária extensiva; estreito contacto entre cães, humanos e pecuária em zonas rurais; elevado número de cães vadios; alimentação dos cães com órgãos potencialmente infectados; e a falta de educação e higiene (Eckert & Deplazes, 2004; Dakkak, 2010). A Hidatidose é considerada uma doença endémica em Espanha, sendo o cão o principal H.D. para *E. granulosus* e os ovinos o principal H.I. (Carmena, Sánchez-Serrano & Barbero-Martínez, 2008). O ciclo epidemiológico doméstico é mantido entre os cães e os ovinos, com o Homem como H.I. accidental; os ciclos selvagens podem ocorrer entre os lobos, javalis e os cervídeos, entre outros e, poderia ocasionalmente ser peridoméstico, uma vez que o genótipo 1, o mais frequente em ovinos e pacientes Humanos, tem sido encontrado em animais selvagens (Rojo-Vazquez *et al.*, 2011). A estirpe suína, genótipo 7, de *E. canadensis* foi também descrita em Espanha (González *et al.*, 2002; Daniel-Mwambete, Ponce-Gordo & Cuesta-Bandera, 2004) e mais recentemente em Portugal em lobos (Guerra, Armua-Fernandez, Silva, Bravo, Santos, Deplazes & Madeira de Carvalho, 2013) e também foi descrito por Martín-Hernando, González, Ruiz-Fons, Garate & Gortazar (2008) a presença de quistos hidáticos férteis da estirpe ovina, genótipo 1, em javalis, espécie que está a aumentar na Península Ibérica, sugerindo que estes animais podem estar envolvidos na epidemiologia de *E. granulosus*. Actualmente alguns trabalhos como o de Rojo-Vázquez *et al.* (2011) enfatizam a importância que esta espécie pode ter uma vez que são presas do lobo ibérico (Sobrino *et al.*, 2006) e também estão disponíveis para os cães durante as temporadas de caça. *E. granulosus* ressurgiu noutros países europeus como a Bulgária, onde domina o genótipo 1 (Breyer, Georgieva, Kurdova & Gottstein, 2004). Quanto à epidemiologia nos suínos domésticos, na tabela 23 estão enunciados, respectivamente, alguns estudos de interesse sobre a presença de *E. granulosus* nesta espécie.

Tabela 23. Estudos de prevalência de *E. granulosus* e caracterização genética nos suínos domésticos em alguns países.

País	Técnica(s)	Prevalência (%)	Genótipo	n	Referência
Espanha (Extremadura em 2005)	Exame <i>postmortem</i>	0,21	-	-	Carmena <i>et al.</i> (2008)
Portugal (Bragança)	Exame <i>postmortem</i>	8,1	-	333	Freire <i>et al.</i> (2005)
Portugal (Cantanhede)	Exame <i>postmortem</i>	0,08	-	66	Conceição (2005)
Itália (Sardenha)	Exame <i>postmortem</i> , PCR e RFLP	9,4	G1 e G7	277	Varcasia, Canu, Lightowlers, Scala & Garippa (2006)
Grécia	Exame <i>postmortem</i>	0,6	-	-	Sotiraki & Chaligiannis (2010)

Quanto à epidemiologia nos cães, hospedeiros definitivos, na tabela 24 estão enunciados alguns estudos de interesse sobre a presença de *E. granulosus* nestes animais.

Tabela 24. Estudos de prevalência de *E. granulosus* em canídeos em alguns países.

País	Técnica	Prevalência (%)	n	Habitat	Referência
Espanha (Extremadura)	Necrópsia	2,12	754	-	Garrudo Arias <i>et al.</i> (1999)
Espanha (La Rioja)	Necrópsia	0,2	-	Rural e Urbano	Jiménez <i>et al.</i> (2002)
Espanha (Alava)	Coproantígeno ELISA	14	726	Rural	Benito, Carmena, Joseph, Martínez & Guisantes (2006)
	Necrópsia	0,5	1040	Urbano	
Portugal	Flutuação com PCR Multiplex	1,5	68	Silvestre	Guerra <i>et al.</i> (2013)
Itália (Abruzzo)	Coproantígeno ELISA	31	-	-	Garippa (2006)

Relativamente à epidemiologia em Humanos, H.I. acidentais, a Hidatidose é uma doença geralmente assintomática nos períodos iniciais uma vez que o parasita cresce de forma bastante lenta; consequentemente, o primeiro diagnóstico é geralmente realizado em pessoas de meia-idade ou idosas e a maioria dos casos fatais ocorre em indivíduos de idade avançada (Carmena *et al.*, 2008). Mais de metade dos quistos hidáticos primários estão localizados no fígado (Eckert & Deplazes, 2004). Sinais neurológicos e pulmonares têm sido descritos após infecção do cérebro e pulmão, respectivamente. Após a ruptura dos quistos e libertação do líquido hidático, podem ocorrer fortes reacções anafiláticas (Thompson & McManus, 2001). Foram notificados 790 casos em 2009 na União Europeia, 11,3% menos que em 2008; 70% destes casos foram da Bulgária, Alemanha, Espanha e Roménia. Espanha apresentou 86 casos confirmados em 2009 com uma incidência de 0,19/100 000 (EFSA, 2011).

#### 3.3.4.4. Diagnóstico

Existe uma vasta gama de ferramentas de diagnóstico disponíveis para *E. granulosus*. A escolha do método depende de alguns aspectos como, por exemplo, a finalidade do estudo, se a amostra de origem é proveniente do H.D. ou H.I, se se trata de um humano ou de um animal, se o animal é doméstico ou de vida selvagem, se o diagnóstico é realizado *in vivo* ou *postmortem* e, por último, a disponibilidade de recursos financeiros disponíveis e dos equipamentos.

Relativamente ao diagnóstico nos H.D., nesta dissertação serão apenas enunciados os métodos que podem ser utilizados. Assim, os ovos de *Echinococcus* spp. podem ser encontrados em amostras fecais *in vivo* ou *postmortem* através de métodos de concentração com uma solução saturada de zinco ou de sacarose seguido de exame microscópico, no entanto, a diferenciação com outros ovos da Família Taeniidae é de difícil realização. Mathias, Deplazes & Eckert (1996) desenvolveram um método de flutuação e filtração com grande sensibilidade na recuperação de ovos das fezes. Este método, apesar de ser rápido, barato e ideal para diagnóstico de rotina, carece de sensibilidade uma vez que só pode detectar infecções patentes e, consequentemente, resultados falsos negativos podem aparecer devido à baixa carga parasitária, desprendimento irregular de ovos ou libertação de proglotes grávidos intactos nas fezes. A purgação com hidrobrometo de arecolina era uma técnica bastante utilizada no passado (Kamiya, 2008; Deplazes, Knapen, Schweiger & Overgaaauw, 2011), com quase 100% de especificidade e sensibilidade inferior a 65% e o parasita adulto expulso nas fezes poderia ser posteriormente identificado (Eckert *et al.*, 2001). A técnica *gold standard* para o diagnóstico de *E. granulosus* em carnívoros é a Técnica de Contagem por Sedimentação (TCS). De forma resumida, o intestino delgado deve ser dividido em cinco secções e incubados em solução salina fisiológica; depois da remoção do intestino, o líquido restante deixa-se sedimentar e passado por sucessivas decantações; os parasitas podem ser visualizados e quantificados utilizando um estereomicroscópio (Kamiya, 2008). Embora este método não necessite de equipamento muito avançado, é demorado e não apropriado para um elevado número de amostras. De acordo com isto, Umhang, Woronoff-Rhen, Combes & Boué (2011) descreveram recentemente uma adaptação desta técnica, a Técnica de Contagem por Sedimentação Segmentar (TCSS), onde apenas dois segmentos do intestino delgado são analisados. A Técnica de raspagem intestinal é outro método baseado na necrópsia, onde se raspa a mucosa intestinal a partir de diferentes locais, sendo depois examinados microscopicamente (Kamiya, 2008). Técnicas mais avançadas têm sido desenvolvidas para o diagnóstico de espécies de *Echinococcus*. Vários coproantígenos-ELISA estão disponíveis para a detecção de antígenos em amostras de fezes de canídeos (Deplazes *et al.*, 1992; Allan *et al.*, 1992; Deplazes, Alther, Tanner, Thompson & Eckert, 1999). Alguns métodos são específicos para uma determinada espécie, enquanto outros detectam *E. granulosus* e *E. multilocularis*. Podem ser utilizados em animais vivos ou *postmortem* e permitem o rastreio de grande número de amostras ao mesmo tempo. As

infecções pré-patentes podem ser detectadas (Deplazes *et al.*, 1992), no entanto, resultados falsos negativos podem ocorrer em áreas de baixa prevalência e também devido à reactividade cruzada com antigénios de *Taenia* spp. (Christofi *et al.*, 2002; Torgerson & Deplazes, 2009). Outra limitação é a impossibilidade de distinção entre infecções actuais ou passadas (Kamiya, 2008). Quanto às técnicas baseadas em PCR, estas são altamente específicas e permitem, por vezes, a identificação da estirpe. Podem ser utilizadas em ovos recuperados a partir de fezes. Uma vez que são técnicas demoradas e caras, a sua utilização em estudos de grande escala é questionável. Quando a análise é realizada em material colhido de fezes, este método apresenta a mesma baixa sensibilidade e limitações como as mencionadas anteriormente para as técnicas coprológicas, nomeadamente o facto de detectar apenas as infecções patentes. Para além disso, os inibidores fecais podem interferir com os resultados do PCR (Torgerson & Deplazes, 2009). Uma forma de ultrapassar isto é isolar os ovos através de uma técnica de filtração-flutuação (Mathis *et al.*, 1996). Várias técnicas baseadas em PCR estão agora disponíveis para o diagnóstico em amostras fecais (copro-PCR) (Abbasi *et al.*, 2003; Štefanić *et al.*, 2004), PCR-multiplex para diferenciar entre *E. granulosus*, *E. multilocularis* e *Taenia* spp. com especificidade de 100% (Trachsel, Deplazes & Mathis, 2007). Quanto ao diagnóstico nos H.I., a maioria das infecções é subclínica, sendo assim, o diagnóstico *postmortem* é a ferramenta ideal para estes animais. Isto é realizado principalmente em matadouros por inspecção visual de órgãos, especialmente o fígado e os pulmões. No entanto, as prevalências conseguidas em matadouro podem ser subestimadas uma vez que a maioria dos indivíduos são abatidos em idades muito jovens, quando os quistos hidáticos ainda são demasiado pequenos para serem detectados (Eckert & Deplazes, 2004; Kamiya, 2008). A sorologia para detectar os antigénios obtidos a partir de fluído hidático pode ser útil, especialmente em animais jovens onde os quistos podem ser negligenciados no diagnóstico *postmortem* (Eckert *et al.*, 2001). No entanto, uma vez que este método não tem sensibilidade, é geralmente mais adequado para identificar o parasita no rebanho em vez de um diagnóstico individual (Eckert & Deplazes, 2004). As técnicas moleculares podem ser utilizadas para identificação de espécies. A amplificação aleatória de ADN polimórfico (RAPD-PCR) foi desenvolvida para distinguir as espécies de *Echinococcus* e entre as estirpes de *E. granulosus* (Scott & McManus, 1994). Também a técnica de RFLP-PCR foi utilizada com sucesso na distinção de estirpes de *E. granulosus* em quistos isolados de hospedeiros intermediários (Beato, 2008).

### **3.3.5. *Trichinella* spp.**

#### **3.3.5.1. Etiologia**

A triquinelose é uma doença parasitária de declaração obrigatória originada pelos nemátodes pertencentes ao género *Trichinella*. Tem uma enorme importância sanitária e económica devido ao seu carácter zoonótico e íntima relação com a pecuária. O género *Trichinella* compreende

algumas espécies com os seus respectivos genótipos, que são os seguintes: *T. spiralis* (genótipo T1); *T. nativa* (genótipo T2); *T. nelsoni* (genótipo T7); *T. pseudospiralis* (genótipo T4); *T. britovi* (genótipo T3); *T. papuae* (genótipo T10); *T. murrelli* (genótipo T5) e *T. zimbabwensis* (genótipo T11). Existem ainda quatro genótipos de taxonomia incerta (Pozio, Hoberg, La Rosa & Zarlenga, 2009a) e que, neste momento, não se encontram enquadrados em nenhuma espécie; também não possuem a nomenclatura binomial tradicional e são os seguintes: *Trichinella* T6; *Trichinella* T8; *Trichinella* T9 e *Trichinella* T12. Na Península Ibérica foram descritas *T. spiralis* e *T. britovi* mas também existem evidências da presença de *T. pseudospiralis*. *T. spiralis* foi a primeira espécie descoberta e mantém-se hoje como a causadora da maioria das infecções nos animais domésticos, suínos e cavalos, e em humanos, podendo até ser letal (Dupouy-Camet, Kociecka, Bruschi, Bólas-Fernández & Pozio, 2002). É a única espécie do género com alta taxa de infecção para suínos domésticos, ratazanas e ratos (Kapel & Gamble, 2000). Igualmente importante é a capacidade de infecção de *T. spiralis* em hospedeiros silvestres, mais concretamente no javali (Kapel, 2001), roedores e outros mamíferos silvestres, que actuam como reservatório natural para esta espécie. A nível mundial, esta espécie foi detectada em 36 países e abarca todos os continentes (Pozio, 2007). *T. britovi* é a espécie que se encontra mais frequentemente nos mamíferos carnívoros silvestres das famílias Canidae, Felidae, Mustelidae, Ursidae, e Vevirridae, que vivem nas regiões temperadas da Europa (Pozio & Murrel, 2006). Na Europa, *T. britovi* detectou-se em 89%, 38% e 18% dos isolamentos de *Trichinella* dos carnívoros, javalis e suínos domésticos, respectivamente (Pozio *et al.*, 2009b). É biológica e morfológicamente semelhante a *T. spiralis*, possuindo um menor índice de capacidade reprodutiva (ICR) em suínos e ratazanas e uma maior resistência à congelação (Kapel & Gamble, 2000). *T. pseudospiralis* é a primeira espécie não encapsulada descoberta por Garkavi em 1972. Esta espécie está claramente diferenciada do resto, morfológica e biologicamente, sendo capaz de infectar tanto as aves como os mamíferos, mas é pouco frequente na natureza. Outra característica diferenciadora desta espécie é o menor tamanho evidente dos indivíduos adultos. Possui um ICR moderado em suínos e ratazanas (Kapel & Gamble, 2000).

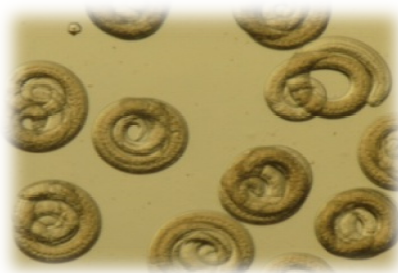


Figura 22. Larvas 1 de *Trichinella* spp. livres do tecido muscular depois da realização da digestão artificial péptica.

(Fotografia gentilmente cedida pelo departamento de Parasitologia da FVC-UEx)



### 3.3.5.2. Ciclos Biológico e Epidemiológico

O género *Trichinella* possui um ciclo directo sem fase de vida livre no ambiente. Todas as fases do ciclo podem produzir-se no mesmo hospedeiro, denominando-se por isso, autoheteroxeno. Também se considera heteroespecífico já que não existem barreiras que impeçam a infecção de uma ou outra espécie, sendo unicamente a temperatura corporal o factor limitante que faz com que as diferentes espécies de *Trichinella* possam desenvolver as suas larvas num ou outro organismo. Assim, *T. spiralis* e *T. britovi*, desenvolvem as suas larvas musculares a temperaturas entre 37 e 40°C e *T. pseudospiralis* pode desenvolver-se, na sua fase muscular, em animais cuja temperatura corporal varia de 37 a 42°C (La Rosa, Marucci, Zarlenga, Casulli, Zarnke & Pozio, 2003). O ciclo consta da fase intestinal e da fase parenteral. A fase intestinal inicia-se com a ingestão de larvas enquistadas na musculatura de um animal infectado, que são ingeridas pelo hospedeiro devido a hábitos predadores ou de canibalismo. Estas larvas libertam-se da cápsula de colagénio no estômago graças à acção do suco gástrico e são transportadas, passivamente, à região final do duodeno e jejuno. Uma vez aí, as larvas invadem a parede intestinal, formando um sincício, onde ocorrem cinco fases larvares separadas por quatro mudas. Nestes locais, fêmeas e machos adultos copulam depois de abandonar a parede intestinal (5-6 pós infecção). As fêmeas são vivíparas e põem directamente a L1 na submucosa intestinal. Na fase parenteral, as L1 abandonam por capilares sanguíneos e linfáticos estes locais e migram para o músculo estriado. Esta migração não é ao acaso, já que a sua localização final na musculatura está muito relacionada com o nível de irrigação e actividade do músculo; deste modo, as larvas tendem a localizar-se nos músculos mais irrigados que assegurem uma correcta nutrição. Os músculos de eleição são o diafragma, os masséteres e sublinguais, e por isso, as técnicas de detecção em carne de consumo realizam-se nestes músculos, onde há maior probabilidade da presença de larvas. As células musculares, gradualmente transformam-se num sincício albergante, *nurse cell*, ao mesmo tempo que a larva cresce e se isola através da formação, por parte do hospedeiro, de uma grossa parede quística. Cada quisto contém uma larva, contudo em infecções intensas pode ter duas ou três. As larvas crescem em tamanho e adoptam a morfologia definitiva durante umas duas semanas, sendo infectantes a partir do dia 17-21 pós infecção, estando preparadas para reiniciar o ciclo evolutivo. Existe a possibilidade de transmissão vertical (Cohen et al., 2010). Quanto aos ciclos epidemiológicos, tradicionalmente, na Península Ibérica, a epidemiologia deste nemátodo subscreveu um ciclo silvestre ou parantropical e outro doméstico ou sinantropical. Contudo, devido ao elevado número de hospedeiros, há um grande número de interconexões, o que faz com que esta divisão não esteja tão definida como no passado. O ciclo silvestre é mantido fundamentalmente por animais silvestres, como é o caso do javali, ainda que todos os mamíferos silvestres e aves são susceptíveis de serem hospedeiros de *Trichinella* spp. A transmissão ao homem produz-se através da ingestão de carne de caça infectada. É de especial relevância a interconexão de

animais silvestres com animais domésticos como os suínos, especialmente o ibérico, o qual realiza a última etapa da sua vida na *dehesa* onde pode ter contacto directo com animais silvestres infectados. Assim, os humanos podem infectar-se ao ingerir carne de porco Ibérico infectada. Takumi et al. (2009) referem que a probabilidade de infecção depois do consumo de 100g de carne de porco curado, inclusive de baixa carga, é de aproximadamente 5%. Por sua vez, neste ciclo silvestre, segundo a localização geográfica dos hospedeiros, podem-se distinguir várias divisões que nos podem ajudar a distribuir a doença e as diferentes espécies do género *Trichinella*. Assim, fala-se do ciclo ártico, que tem lugar na zona Ártica, Subártica e Antártica; do ciclo africano, que tem lugar em zonas tropicais do Este de África, na Índia e no Irão e, por último, do ciclo temperado, que é a variedade do ciclo silvestre que se encontra em quase toda a Europa, incluindo Portugal e Espanha, assim como em zonas temperadas do resto mundo; resulta de hábitos como o carnivorismo entre animais silvestres, principalmente, das raposas, lobos, gatos monteses, mustelídeos e javalis. No ciclo doméstico, há uma dependência da cultura zootécnica do homem, ou seja, do seu maneio com os animais, tanto domésticos como silvestres, e da sua influência sobre as condições ambientais que os rodeiam. Neste ciclo, a carne de suíno é o principal factor de expansão de *Trichinella* spp. Para a propagação da triquinelose sugere-se que podem actuar como agentes de propagação os roedores (Takumi et al., 2010). Neste ciclo tem grande importância o canibalismo e a caudofagia entre os suínos. De modo mais específico, há autores que dizem que, dentro do ciclo doméstico, há diferença entre um ciclo urbano e um ciclo rural. O ciclo urbano desenvolve-se unicamente com os suínos domésticos ou entre estes e os animais sinantrópicos (caso dos cães, gatos, ratazanas, etc.). Actualmente, devido às medidas sanitárias, este ciclo praticamente desapareceu. O denominado ciclo rural seria aquele que ocorre em explorações de suínos em extensivo, onde se produz contacto destes animais com silvestres. Na Europa ocidental, segundo Pozio (1998), este ciclo rural detectou-se em pequenas varas no Sul da Finlândia e em algumas regiões de Espanha. Contudo, outros autores como Pérez-Martín, Serrano, Reina, Mora & Navarrete, (2000), num estudo centrado no Sudoeste Espanhol, consideram que mais que um ciclo rural, existe um ciclo silvestre com interconexões com animais domésticos.

### **3.3.5.3. Situação Epidemiológica**

A triquinelose é uma parasitose amplamente distribuída na Europa, ocorrendo em duas áreas onde é comum o porco doméstico, que são Espanha e alguns países do Este (Pozio et al., 2009b). A Autoridade Europeia de Segurança Alimentar, no seu relatório de 2011, determina as prevalências de *Trichinella* em alguns dos hospedeiros a nível europeu, estudando o período 2007-2009, encontrando: 0,136% no javali; 0,00033% nos suínos; 1,9% na raposa e 0,1% em outros animais silvestres. A mesma Autoridade Europeia comunica 748 casos humanos em 2009, aumentando 11,6% relativamente aos casos detectados em 2008. Esta casuística



concentra-se, principalmente, entre a população de 15 e 44 anos onde se dão 1,6 casos por milhão de habitantes. São destacados os quatro casos detectados em 2009 em crianças com idades entre 0 e 4 anos. A importância como zoonose é reflectida no aparecimento de surtos diagnosticados em Espanha (Gallardo *et al.*, 2007), e no resto do mundo (Akar *et al.*, 2007). Um dos mais graves e recentes surtos ocorridos em Espanha foi em princípios de 2011 em *Huesca*, onde uma pessoa morreu por consumo de carne positiva de javali. Quanto à importância sanitária, diversos estudos estimam 11 milhões de pessoas afetadas no mundo (Dupouy Camet, 2000). A fonte mais importante de infecção humana a nível mundial é o suíno. Contudo, a maioria dos surtos que aconteceram na Europa nas últimas décadas estão ligados à carne de cavalo e javali. De facto, Pozio em 1998 citado por Gamito-Santos (2011) indica que o aumento de javalis em toda a Europa provocou um aumento da triquinelose humana. Nos seres humanos, a dose mínima de larvas que causa a doença não está claramente definida; Dupouy Camet & Bruschi (2007) estimam que aproximadamente entre 100-300 larvas de *T. spiralis* produzem sintomas leves e que um consumo superior, entre 1000-3000 causa doença grave.

Tabela 25. Estudos de *Trichinella* spp. na Europa em alguns dos hospedeiros susceptíveis.

País	Hospedeiro	Prevalência (%)	Etiologia	Referência
Espanha	Javalis	0,2	<i>Trichinella</i> spp.	EFSA <i>Journal</i> , (2011)
	Raposa	4,55		
	Porco doméstico	0,00016		
França	Raposas e Javalis	<0,01	<i>T. britovi</i> e <i>T. spiralis</i>	Boireau, (2005)
Itália	Javalis	-	<i>T. pseudospiralis</i>	Merialdi <i>et al.</i> (2011)
Portugal	Raposas	4,9 (n=206)	<i>Trichinella</i> spp.	Magalhães <i>et al.</i> (2004)
	Raposas e Lobos	9,1* (n=22)	<i>Trichinella</i> spp.	Silva <i>et al.</i> (2012)

\* Só as raposas foram positivas

Tabela 26. Surtos/casos de infecção por *Trichinella* spp. na Europa em Humanos.

País	Fonte de infecção	Número de surtos/casos	Referência
Alemanha	Porcos procedentes de países endémicos	12 surtos entre 1996 e 2006	Jansen, Schönenberg, Stark & Nöckler (2008)
Bulgária	Reemergência desta zoonose relacionada com a não inspecção da carne de javalis	67 casos em 2008	EFSA <i>Journal</i> , (2011)
		407 casos em 2009	
Espanha	75,5% tem origem em carne ou enchidos de javalis abatidos em caçadas	49 surtos em 2001	Rodríguez de las Parras, Rodríguez-Ferrer, Nieto-Martínez, Ubeira & Cárate-Ormaechea (2004)
França	Porco doméstico e javali	135 casos em 20 surtos desde 1975 a 2006	De Bruyne, Ancelle, Vallée, Boireau & Dupouy-Camet (2006)
Itália	Cavalo	1038 casos entre 1975 e 2005	Pozio & Murrell (2006)
	Porco em extensivo	1 surto em 2005	Pozio <i>et al.</i> (2006)
	Javali	1 surto	Romano <i>et al.</i> (2011)

Estudando a evolução dos casos entre 2003 e 2005 na *Extremadura* (Espanha), Pérez-Martín *et al.* (2007) obtêm uma prevalência média em suínos de autoconsumo de 0,026%; 0,17% em javali e 3,59% em raposa. A maior parte dos casos produzem-se por *T. spiralis* e em menor medida por *T. britovi*. Na temporada de caça e matança domiciliária 2008/2009, detectaram-se 23 casos, 4 deles em suínos domésticos e o resto em javalis. Destes casos, estudaram-se 18 através da técnica Multiplex-PCR, sendo identificados 14 deles como *T. spiralis* (77,8%) e só 4 como *T. britovi* (22,2%) (Blanco *et al.*, 2009).

#### 3.3.5.4. Diagnóstico

Historicamente, o método de diagnóstico utilizado para a detecção de larvas musculares de *Trichinella* spp. foi a triquinoscopia. Actualmente, existe o Regulamento 2075/2005 da União Europeia, onde se estabelecem normas específicas para o controlo oficial da presença de *Trichinella* spp. na carne. Nesta regulamentação estabelece-se a digestão de amostras colectivas com utilização de um agitador magnético como método oficial de diagnóstico da triquinose. Existem estudos a respeito que avaliam a eficácia de métodos imunológicos para a detecção de *Trichinella* spp., contudo estes não são aceites como válidos para o diagnóstico desta parasitose, já que não se conseguem estabelecer condições que assegurem uma repetibilidade e fiabilidade completa nestas técnicas quando falamos de porco doméstico e, muito menos, de javali. A todo

o descrito no parágrafo anterior, há que juntar que o processo de especiação que sofre o género *Trichinella* constitui outro problema diagnóstico, que dificulta a avaliação da resposta serológica por métodos imunoenzimáticos às diferentes espécies deste género. Segundo Van Knapen em 1985 (Gamito-Santos, 2011), a triquinoscopia era já prática habitual na Europa, diminuindo em grande medida a prevalência de *Trichinella* spp. Estas medidas nos E.U.A não se aplicaram por vários motivos, tais como: a ausência de importantes surtos epidémicos, o gasto económico que supunha implantá-la e serem os primeiros a colocar em dúvida a sensibilidade desta técnica de diagnóstico (Salmon, 1895 citado por Gamito-Santos, 2011). Este facto teve como consequência, por um lado, que grande parte dos países da Europa proibisse a importação de porco americano e, por outro, a que os E.U.A se tornassem um país endémico. A respeito do diagnóstico da triquinelose por digestão péptica, o primeiro investigador conhecido que utiliza esta técnica é Thornbury em 1887 (Gould, 1945 citado Gamito-Santos, 2011). Originalmente, o método foi de digestão Baermann, sendo muito utilizado no início (Henriksen, 1973 citado por Gamito-Santos, 2011). Quando falamos de métodos de diagnóstico directo, referimo-nos àquelas técnicas nas quais se demonstra alguma fase do ciclo do parasita. Neste caso, vamo-nos centrar na digestão péptica. Em 2005 estabelece-se o Regulamento (CE) 2075/2005 que supõe um passo à frente no aumento da sensibilidade das técnicas de detecção deste parasita. Este regulamento ditou a data de saída da triquinoscopia como método de diagnóstico a 31 de Dezembro de 2009. Indica que a triquinoscopia deve ser substituída depois de um período transitório, por um método de detecção mais fiável. Dentro destes métodos de detecção mais fiáveis não se incluem os ensaios serológicos. O Regulamento (CE) 2075/2005 estabelece como método oficial a digestão de amostras colectivas com utilização de um agitador magnético, determinando o número de grama que se devem analisar, assim como os músculos de eleição em função da espécie. Isto supõe um claro aumento na sensibilidade diagnóstica. Este regulamento europeu é modificado posteriormente pelo Regulamento (CE) 1665/2006 que permite a marcação sanitária das carcaças antes de receber o resultado do diagnóstico de *Trichinella* spp., sempre que o estabelecimento garanta que não há saída de nenhuma parte do animal até que se obtenham os resultados; pelo Regulamento (CE) 1245/2007 que permite a utilização de pepsina líquida para o método de digestão por agitação magnética; e pelo Regulamento de Execução (UE) 1109/2011 que permite o método de digestão de amostras combinadas utilizando um agitador magnético/isolamento por filtragem e detecção de larvas mediante teste da aglutinação em látex, sendo apenas considerado como equivalente para o teste da carne de suínos domésticos. Em Espanha, implantou-se em Maio de 2010 o Plano Nacional de Contingência contra *Trichinella* spp., no qual é revisto um aspecto importante do Regulamento (CE) 2075/2005. Assim, é permitida a utilização da triquinoscopia em análises de porcos de matança domiciliária e em carne de caça silvestre que se administre directamente ao consumidor final ou a estabelecimentos locais que administrem directamente ao consumidor

final. Esta modificação surge da dificuldade de análise destes animais pelo método de digestão, que ainda não está devidamente assente nos Médicos Veterinários livres (não dependentes da Administração Pública). A triquinoscopia foi o método mais utilizado para o diagnóstico da triquinelose animal e, sem dúvida, teve um importante papel na diminuição da prevalência de *Trichinella* spp. Recentemente, num estudo realizado em ratos por Ramírez-Melgar, Gómez-Priego & La Rosa, (2007), foi proposta uma melhoria na detecção de larvas de *Trichinella spiralis* por compressão e posterior adição de *Giemsa*. Estes investigadores observaram o quisto larvar tingido com este corante e o resto das fibras musculares não parasitadas com a sua cor normal. Este facto é importante já que facilita a visão das larvas enquistadas e, portanto, a sensibilidade no diagnóstico. Indicaram ainda que poderia ser útil para um rápido diagnóstico *postmortem* sem necessidade de visualização ao microscópio, já que o ponteadado esverdeado produzido pela coloração *Giemsa* seria visível macroscopicamente.

### **3.4. Medidas de controlo e prevenção de parasitas**

O produto de eleição para o tratamento da coccidiose em leitões é o Toltrazuril, uma vez que já demonstrou excelentes resultados tanto em condições experimentais como em condições de campo, prevenindo o aparecimento de sinais clínicos e perdas produtivas, ao mesmo tempo que permite o desenvolvimento de imunidade. Para o controlo nas explorações é essencial um bom manejo e medidas preventivas eficazes. Para a desinfecção inclui-se o vapor de água quente (> 70°C), assim como compostos que sejam capazes de penetrar na parede do ooquiste, tais como os cresóis, o cloro ou amoníaco a 50%. Deve efectuar-se a quarentena dos animais de nova aquisição e o tratamento estratégico das mães, para tal, pode-se administrar Toltrazuril 7-10 dias antes do parto e até 2-3 semanas depois do mesmo, tendo em conta que os animais adultos assintomáticos podem ser uma fonte de infecção (Frontera Carrión *et al.*, 2009c).

Para o tratamento da Macracantorrinose os anti-parasitários aconselhados são a Ivermectina, o Levamisol e a Loperamida. Para a prevenção desta parasitose suína, em primeiro lugar, deve-se recorrer aos controlos analíticos da exploração e desparasitação periódica. São necessárias medidas adequadas de manejo de forma a não permitir que os suínos ingiram escaravelhos. Assim, aconselham-se boas práticas de higiene, desinfecção e controlo de pragas, alojamento em solo de cimento e rotação da pastagem. Outro tipo de acção consiste em evitar o uso de parcelas ou campos de pastagem contaminados e a utilização do arganel nasal em animais susceptíveis (Frontera Carrión *et al.*, 2009g).

Em explorações onde tenham sucedido casos importantes de Metastrongilose, os suínos devem manter-se em lugares secos e bem drenados ou em instalações com solos de cimento. Aos animais que saem para a montanha deve ser colocado o arganel nasal para evitar que ingiram as minhocas com as raízes. Os terrenos podem permanecer afectados durante anos, pelo que deveriam ser destinados ao cultivo ou pastoreio de outras espécies animais (García-González,

2010). Relativamente aos fármacos aconselhados são o Febendazol, o Tiabendazol e o Levamisol (Biehl, 1986; Ayoade, Adejinmi, Abiola & Lucas, 2003).

Alguns estudos confirmaram que os carboidratos fermentáveis podem ter um impacto negativo substancial sobre o estabelecimento ou sobre as já estabelecidas infecções por *Oesophagostomum* spp. Embora o mecanismo não esteja completamente claro, acredita-se que esteja aliado às propriedades físico-químicas do conteúdo intestinal e dos produtos finais da fermentação de bactérias (ácidos gordos de cadeia curta), particularmente no cego e no cólon. Para mimetizar este processo, a infusão directa de ácidos gordos de cadeia curta e de ácido láctico foram utilizados para eliminar 92% do *Oesophagostomum* spp. estabelecidos (Roepstorff *et al.*, 2011). Fontes de hidratos de carbono fermentáveis, tais como a inulina, um frutano purificado a partir de raízes de chicória, isolada ou combinada com fibras de beterraba mostraram ser eficazes no controlo deste parasita (Roepstorff *et al.*, 2011). Adicionalmente, como alternativa à inulina, que é demasiado dispendiosa, as raízes de chicória (*Chicorium intybus*) cruas, picadas e secas ou moídas, também apresentaram resultados promissores. Embora não seja totalmente capaz de eliminar os parasitas adultos estabelecidos, a inclusão dietética de raízes de chicória secas ou cruas pode, em apenas dois dias, quase abolir as contagens experimentais de ovos de *Oesophagostomum* spp. nas fezes (Roepstorff *et al.*, 2011). Um resultado que também foi demonstrado por duas vezes para *Oesophagostomum* spp. em explorações agro-pecuárias, indica que este princípio tem um potencial para a redução da contaminação do meio ambiente e, conseqüentemente, da transmissão entre suínos (Roepstorff *et al.*, 2011). Relativamente aos fármacos aconselhados para combater estes parasitas são o Febendazol pois tem uma eficácia entre os 95 e 100% (Biehl, 1986). O Tiabendazol é activo no combate a *H. rubidus* e *Oesophagostomum* spp. com uma eficácia de 78%, aproximadamente (Biehl, 1986; Ayoade *et al.*, 2003). O Levamisol também apresenta acção sobre *Oesophagostomum* spp., que segundo diferentes estudos tem uma eficácia também elevada, variando entre os 89 e os 100% (Biehl, 1986; Ayoade *et al.*, 2003). O Tartarato de Pirantel é activo contra os adultos e formas larvares de *Oesophagostomum* spp. e *H. rubidus* (Biehl, 1986). Nos suínos a resistência de *Oesophagostomum* spp. aos Benzimidazóis e Levamisol foi descrita, assim, neste caso aconselhamos o Tartarato de Pirantel como alternativa.

O efeito global dos carboidratos fermentáveis nos adultos de *T. suis* parece igualmente promissor, relativamente aos resultados obtidos para *Oesophagostomum* spp. (Roepstorff *et al.*, 2011). São recomendáveis boas medidas de higiene nas explorações que incluam uma desinfecção periódica das instalações e utensílios. Outra consideração a ter em conta é o tratamento periódico dos animais afectados, sendo de assinalar que estes parasitas são bastante resistentes, pelo que se devem aumentar as doses em comparação com outros nemátodes (Frontera Carrión *et al.*, 2009o). Relativamente aos fármacos aconselhados para combater estes

parasitas são o Febendazol, o Tiabendazol e ainda as Lactonas Macrocíclicas que atingem uma eficácia de 100% contra este parasita (Biehl, 1986; Ayoade *et al.*, 2003; Karamon *et al.*, 2008). Relativamente às medidas de prevenção e controlo, o efeito global dos carboidratos fermentáveis nos adultos de *A. suum* parece menos promissor, relativamente aos resultados obtidos para *Oesophagostomum* spp., mas isso pode em parte reflectir o facto do local de predilecção de *A. suum* ser a parte anterior do jejuno onde a fermentação é mínima comparada com o ceco e cólon. A migração das larvas, por outro lado parece ser reduzida, possivelmente devido ao facto das larvas passarem através do ceco e cólon (Roepstorff *et al.*, 2011). Relativamente aos fármacos aconselhados para combater estes parasitas são o Febendazol, o Tiabendazol que previne o aparecimento de pneumonia causada pela migração larvar de *A. suum* mas não as *milk spots* causadas pela migração hepática do parasita, o Levamisol, o Tartarato de Pirantel que é activo contra os adultos e formas larvares de *A. suum*, que quando administrado de forma contínua, mata as larvas de *A. suum* no lume do estômago assim que estas eclodem dos ovos. Pela sua forma impar de actuar, este antihelmíntico é o único que consegue prevenir as migrações hepáticas e pulmonares, evitando assim o aparecimento de *milk spots* no fígado e ainda as Lactonas Macrocíclicas que atingem uma eficácia de 100% contra este parasita (Biehl, 1986; Ayoade *et al.*, 2003; Karamon *et al.*, 2008).

A melhor forma de proteger as populações humanas de Balantidiose é através de uma fonte de água limpa e não contaminada. O cloro, nas concentrações normalmente utilizadas para garantir a segurança da água, não é eficaz contra os quistos de *B. coli*, assim, a água e alimentos suspeitos devem ser fervidos (Anargyrou *et al.*, 2003); os suínos não devem ser autorizados a circular perto dos cursos de água ou rios que desembocam em reservatórios que são utilizados para a prestação de abastecimento de água municipal; da mesma forma, a disseminação das lamas de tratamento de efluentes como fertilizante pode levar à contaminação do produto ou fontes de água com quistos de *B. coli* (Schuster & Ramirez-Avila, 2008). As normas de higiene pessoal para evitar infecções de origem fecal e o tratamento efectivo das pessoas infectadas com Tetraciclina ou Metronidazol devem reduzir o risco de infecção (Anargyrou *et al.*, 2003; Schuster & Ramirez-Avila, 2008). Ao nível das explorações é importante a limpeza e desinfecção das instalações com produtos capazes de destruir os quistos de *B. coli*, nomeadamente os desinfectantes à base de amónia (Frontera Carrión *et al.*, 2009b). O tratamento da infecção em suínos pode ser efectivo com Oxitetraciclina (Solaymani & Petri, 2006).

É necessário impedir a presença de cães e gatos especialmente nas zonas de produção, nas zonas de preparação de alimentos mas também nas zonas onde os suínos se alimentam (montados), onde os cães e gatos poderiam depositar esporocistos de *Sarcocystis* spp. através das suas fezes. É conveniente alimentar os animais domésticos com carnes bem cozidas, para evitar a ingestão de quistos com bradizoítos. As pessoas devem evitar que os seus dejectos cheguem à

exploração. Deve também ser evitada a fertilização dos campos de cultivo com águas fecais nas quais podem haver esporocistos de origem canina (*S. miescheriana*) ou humana (*S. suihominis*) (Frontera Carrión *et al.*, 2009). Quanto à elevada presença de raposas na *Extremadura*, poderia tentar-se evitar a sua entrada nas explorações com melhorias a nível das vedações. Nas actividades cinegéticas em que se utilizam cães, não se deve permitir a ingestão de carne crua de javali uma vez que poderá ser uma fonte de contágio para estes animais se a carne de javali contiver quistos com bradizoítos (Frontera Carrión *et al.*, 2009). Em relação aos aspectos zoonóticos, o Homem infecta-se pela ingestão de carnes portadoras de quistos musculares e podem ocorrer duas síndromes distintas devido aos sarcosporídios: uma causada pela toxina, a sarcocistina, presente nos quistos, cuja origem pode dever-se não só a *S. suihominis* como também a *S. miescheriana* e *S. porcifelis*, que em muitos casos pode ser confundida com outras toxiinfecções alimentares; a segunda síndrome é como consequência da fase intestinal dos sarcocistos de *S. suihominis*, devido principalmente à ingestão de quistos presentes na carne dos hospedeiros intermediários, neste caso o porco (García *et al.*, 2007). No músculo suíno comprovou-se que os quistos de *Sarcocystis* spp. são inactivados depois de cozinhar a carne a 60, 70 e 100°C durante 20, 15 e 10 minutos, respectivamente. Igualmente, os quistos deixam de ser infectantes congelando a carne a -4 e -20°C durante 48 e 24 horas, respectivamente (Frontera Carrión *et al.*, 2009).

Relativamente às medidas de prevenção e controlo para *T. gondii*, devem ser medidas que evitem a transmissão e o contágio. Assim, as medidas preventivas na exploração devem ser: proibição da entrada de gatos nas explorações e principalmente nas zonas de produção; aplicação de bons programas de controlo de pragas e de limpeza e desinfecção; proibição da administração de desperdícios crus ou mal cozidos aos suínos; manter a ração e forragens cobertas, evitando o acesso de roedores e outros possíveis hospedeiros. As medidas preventivas em humanos baseiam-se na lavagem das mãos com água e sabão depois do contacto com carne crua; cozinhar convenientemente a carne, os quistos tissulares são destruídos às temperaturas normais de cozedura (70°C) e bastam apenas alguns minutos para inactivar os quistos a 58°C; conservar a carne infectada a temperaturas de refrigeração, 4-6°C, durante 2 meses permite a sobrevivência do parasita e o uso de microondas também não é efectivo para destruir os quistos, provavelmente porque o calor não alcança toda a peça de carne, no entanto, a congelação normal que se costuma utilizar em âmbito doméstico ( $\leq 12^{\circ}\text{C}$ ) inactiva o parasita em 3 dias, bem como o tratamento de carnes suínas com concentrações de sal a 2-2,5% a temperaturas de refrigeração, são eficazes na activação do parasita depois de 48 horas de tratamento; lavar bem os vegetais; utilizar luvas em actividades de jardinagem e efectuar análises serológicas durante a gravidez (Frontera Carrión *et al.*, 2009m).

Relativamente às medidas de prevenção e controlo da Hidatidose, e tendo em conta que o ciclo biológico de *E. granulosus* é fechado quando um cão ingere vísceras ou carne crua, podendo



estas apresentar aparência normal e conter algum quisto pequeno na zona mais profunda do parênquima, ou veicular protoescólex na sua superfície procedente de um quisto que se rompeu acidentalmente, ou o animal procura alimento em desperdícios. Assim, é de extrema importância a prevenção da infecção dos cães, evitando que se alimentem com vísceras e carne crua, que devem ser fervidas adequadamente para tornar inviáveis os quistos. A 60°C morrem em 10 minutos e a 100°C morrem instantaneamente. Os cães devem também ser desparasitados a cada 6 semanas com Praziquantel. Algumas precauções devem ser tomadas para evitar a Hidatidose humana como a lavagem adequada das mãos depois de acariciar os cães, principalmente os de procedência duvidosa, bem como a lavagem adequada de frutas e hortaliças, no entanto, o calor é o único método eficaz para destruir os ovos (Frontera Carrión *et al.*, 2009f).

Relativamente ao tratamento de *Trichinella* spp., em Medicina Veterinária, aplica-se unicamente em casos muito excepcionais, como por exemplo, em cães. Em humanos, o tratamento por excelência baseia-se na administração de Mebendazol (200 mg/kg/dia/3 dias). Juntamente com este antihelmíntico costuma administrar-se prednisolona e fazer-se um tratamento sintomático com antipiréticos e analgésicos. Outros antiparasitários que podem ser utilizados são o Flubendazol, Pirantel, Albendazol ou Flubendazol. (Frontera Carrión *et al.*, 2009p). Quanto à profilaxia, é necessário ter em conta que tentar erradicar esta doença é totalmente utópico uma vez que é mantida por uma vasta gama de hospedeiros, em grande parte selvagens, e portanto, incontrolados. No entanto, e principalmente nas explorações extensivas, deve limitar-se, na medida do possível, o contacto dos animais domésticos com os selvagens. As explorações devem ter um bom plano de controlo de roedores; os cadáveres devem ser eliminados por incineração ou por enterramento a um metro de profundidade; não se deve alimentar os suínos com resíduos de matadouros ou de montarias; a carne deve ser cozinhada a 100°C durante 30 minutos em peças com menos de 2kg; não se deve consumir carne sem ser submetida a inspecção sanitária. Como métodos de tratamento das carcaças existem os físicos como o calor (destrói as larvas a 58°C durante 10 minutos mas utilizam-se temperaturas de 80°C durante uma hora, cortando as peças em partes de espessura superior a 10cm); o frio (que segundo o regulamento 2075/2005 se estabelece que para carnes de diâmetro inferior a 15cm devem estar durante 20 dias a -15°C, 10 dias a -23°C ou 6 dias a -29°C e as carnes de diâmetro entre 15 e 50cm devem estar 30 dias a -15°C, 20 dias a -25°C ou 12 dias a -29°C) e a irradiação (com raios X ou gamma em que uma dose entre 15 000- 30 000 rad é suficiente para que as larvas fiquem inviáveis, sempre que as partes não excedam os 10cm; método aceite pela FDA (Administração de Alimentos e Fármacos dos Estados Unidos)). Existem ainda os métodos químicos como a salga (imersão da carne em salmoura, 19% de NaCl em H<sub>2</sub>O, durante seis semanas) ou a fumagem (eficaz se for fumagem a quente, pois neste caso atingem-se temperaturas superiores a 70°C durante, aproximadamente, 6 horas; este processo tecnológico é

utilizado nos produtos de salsicharia tradicional portuguesa (Barreto, 2010)). Os casos positivos devem ser declarados aos Serviços Oficiais de Sanidade e as carcaças devem ser rejeitadas na sua totalidade (Frontera Carrión *et al.*, 2009p). Para que estas medidas possam ser realizadas e para que o plano de luta e prevenção seja eficaz, é necessária a actuação de cada colectivo, nomeadamente, a população (não consumir carne não inspeccionada pelo MV), MV (inspecção em matadouro e montarias; consciencialização da população geral, caçadores, produtores pecuários), caçadores (não consumir carne de javali não inspeccionada pelo MV; devem eliminar os cadáveres das raposas de forma efectiva pois é o maior reservatório silvestre de Triquinelose na *Extremadura*) e gestores cinegéticos (devem evitar a caça furtiva, evitar as grandes concentrações de javalis em terrenos cercados), para que seja possível a convivência com *Trichinella* spp. mediante um nível de controlo que implique a segurança alimentar (Gamito Santos *et al.*, 2012).

Poderá ainda adicionar-se à alimentação destes animais folhas de oliveira (*Olea europaea* L.) e de hortelã (*Mentha piperita* L.) pois têm acção contra nemátodes (Lansa, Turner, Khan, & Brauer, 2007).

A inactivação dos ovos de *T. suis* e *A. suum* poderá ser realizada através de compostagem termofílica (45 a 85°C) e da compostagem mesofílica (25 a 43°C). Observações recentes indicam também que o armazenamento anaeróbio simples de chorume e estrume sólido pode inactivar os ovos destes parasitas, contudo, a temperaturas de 20°C o armazenamento de um ano parece ser necessário para que ocorra essa inactivação, sendo ainda necessário mais tempo de armazenamento se a temperatura for de 4°C (Roepstorff *et al.*, 2011).

Outra abordagem interessante é a utilização de microfungos ovo-predadores. Vários microfungos são utilizados comercialmente em larga escala para combater parasitas nematodos de plantas em monoculturas tais como, por exemplo, *Pochonia chlamydosporia* que demonstrou atacar *A. suum* *in vitro*; comprovou-se também que este fungo mantém a habilidade para destruir *A. suum* após a sua passagem pelo tracto gastrointestinal dos suínos e a utilização de microfungos também é válida para *T. suis* (Roepstorff *et al.*, 2011).

## **4. Contribuição para a caracterização do parasitismo em suínos da raça Ibérica e javalis silvestres das Comunidades Autónomas da *Extremadura* e *Castilla y León* (Espanha) e dos factores de risco associados**

### **4.1. Objectivos**

Os objectivos para a realização do presente trabalho foram divididos em duas partes, uma de carácter formativo e outra de carácter de investigação.

- Objectivos de carácter formativo:

- Seguimento das actividades diárias de diagnóstico no Laboratório de Parasitologia do Hospital Veterinário da *Facultad de Veterinária* da UEX;
- Acompanhamento e participação nas actividades de Médicos Veterinários inspectores sanitários de actividades cinegéticas de caça maior em municípios da Comunidade Autónoma da *Extremadura*;
- Acompanhamento de Médicos Veterinários de Saúde Pública (Equipas de Atenção Primária) em algumas das actividades veterinárias nos Centros de Saúde *Extremeños*.
- Objectivos de carácter de investigação:
  - Estudo parasitológico do porco Ibérico em explorações pecuárias da Comunidade Autónoma da *Extremadura* por sistemas de produção e por lotes de idades ou grupos de produção e elaboração de um inquérito sobre factores de risco;
  - Estudo da realidade parasitológica individual do porco Ibérico da Comunidade Autónoma da *Extremadura* a nível de matadouros;
  - Estudo da parasitofauna dos javalis silvestres em montarias e comparação com a do porco Ibérico da Comunidade Autónoma da *Extremadura*.

## 4.2. Material e Métodos

### 4.2.1. Desenho experimental

Para o conhecimento da parasitofauna do porco Ibérico por lotes e sistemas de produção, a recolha e processamento das amostras começaram dia 13 de Novembro de 2011 e terminaram dia 5 de Abril de 2012. Para o diagnóstico de formas de disseminação de parasitas gastrointestinais e pulmonares, efectuaram-se 87 flutuações, 87 sedimentações, 87 McMaster e 10 métodos de Baermann para isolamento de larvas de 3º estadio (L3). Para conhecimento dos resultados obtidos realizou-se um relatório de resultados coprológico que foi entregue em mão ou enviado por correio electrónico ao proprietário dos animais em questão (Anexo 2). Realizou-se ainda um inquérito de exploração sobre factores de risco, com 38 perguntas sobre dados relativos ao proprietário, à exploração pecuária e efectivo animal, à gestão, à biossegurança e ao plano sanitário (Anexo 3).

Relativamente ao estudo da realidade parasitológica individual do porco Ibérico ao nível de matadouros, foram realizadas 4 visitas (total de 12 horas), sendo uma delas ao Matadouro de *Cáceres* e três ao Matadouro de *Arroyo de la Luz*. A amostragem foi realizada nestes matadouros pela proximidade geográfica à FVC, tendo início no dia 19 de Janeiro de 2012 e fim no dia 21 de Fevereiro de 2012. Nestas quatro visitas, conseguimos um total de 100 indivíduos, todos eles suínos da raça ibérica, dos quais sabemos a sua procedência, o sexo, a idade, o lote e sistema de produção e o grau de pureza da raça. As amostras recolhidas foram de fezes, pulmões, linfonodos mesentéricos, sangue, coração e pilares de diafragma. Quanto ao coração,

para o diagnóstico de *Sarcocystis* spp. pelo método de Erber modificado por Serrano *et al.*, (2010), e pilares de diafragma para o diagnóstico de *Trichinella* spp. pelo método oficial de digestão péptica (Regulamento (CE) 2075/2005), aumentou-se o número de amostras para 140 pilares de diafragma e 110 corações, entrando estes valores para o cálculo de prevalência destes dois parasitas. Estes animais eram procedentes de seis propriedades que foram utilizadas no estudo da parasitofauna do porco Ibérico por lotes e sistemas de produção, contudo, não obtivemos o inquérito sobre factores de risco. Quanto ao processamento de amostras, no total, efectuaram-se, para o diagnóstico de formas de disseminação de parasitas gastrointestinais e pulmonares, 100 flutuações, 100 sedimentações, 100 McMaster; para a identificação das espécies pertencentes ao género *Metastrongylus* e pesquisa de quistos hidáticos (*Echinococcus polymorphus*) pelo método de observação directa foram analisados 100 indivíduos e processados 200 pulmões pelo método de observação directa; efectuaram-se 110 digestões tríplicas para o diagnóstico de *Sarcocystis* spp.; analisaram-se 140 pilares de diafragma para o diagnóstico *Trichinella* spp. através de digestão artificial péptica; e, por último, o sangue de 100 animais, em que foram analisados apenas 13 deles para detecção de Ac anti-*Toxoplasma gondii* pela técnica de ELISA indirecta; e, por último, tomaram-se ainda linfonodos mesentéricos desses 100 animais, sendo analisados apenas linfonodos de 13 indivíduos por *n*PCR para detecção de ADN de *T. gondii*; a redução do número de amostras analisadas para o diagnóstico de *T. gondii* por ambas as técnicas deveu-se ao facto da disponibilidade de reagentes ser limitada.

Por último, no caso das amostras provenientes dos javalis, foram tomadas fezes, também para efectuar as análises coprológicas qualitativas e quantitativas de rotina, onde analisamos 78 lotes (127 animais analisados), dos quais 23 eram lotes de javalis jovens (35 animais analisados), 41 eram lotes de javalis adultos (72 animais analisados) e 14 eram lotes de javalis sem informação sobre a idade (20 animais analisados); os pilares de diafragma de 90 animais para o diagnóstico de *Trichinella* spp. foram analisados pelo método Oficial de digestão péptica (Regulamento (CE) 2075/2005), os pulmões de 23 indivíduos para a recolha e diagnóstico de *Metastrongylus* spp. foram processados pelo método de observação directa e o sangue de 23 javalis foi centrifugado e o soro obtido foi devidamente identificado e guardado em *Eppendorf* (tubos de 1,5mL) em congelação (-65°C). A amostragem em montarias começou dia 19 de Novembro de 2011 e terminou dia 2 de Fevereiro de 2012.

#### **4.2.1.1. Recolha das amostras e entrega do inquérito de exploração**

Os passos seguidos na recolha das amostras serão descritos seguidamente, quer para as amostras biológicas provenientes dos animais das explorações (*antemortem*), como também para as amostras provenientes dos animais sacrificados em matadouro (*postmortem*), bem como para as amostras de javalis tomadas em montarias (*postmortem*). Assim, no caso da amostragem

*antemortem* para conhecimento da parasitofauna do porco Ibérico por lotes e sistemas de produção, e tratando-se de amostras fecais, estas foram tomadas dos diferentes lotes de produção, aleatória e directamente do solo onde os animais defecaram e colocadas dentro de um saco de plástico limpo e devidamente identificado. Após a recolha, as amostras de fezes foram acondicionadas, sempre que possível, em malas térmicas até ao local de processamento no laboratório de Parasitologia da Faculdade de Medicina Veterinária de Cáceres, sendo processadas e analisadas o mais rapidamente possível pelos métodos coprológicos qualitativos e quantitativos de rotina. Quando não era possível um processamento imediato, as amostras eram conservadas no frio a 4°C. Juntamente com a recolha das amostras de fezes nas explorações, foi entregue um inquérito de exploração sobre factores de risco aos produtores pecuários de cada uma delas (Anexo 3); depois de as amostras estarem devidamente analisadas e da obtenção dos resultados, foi enviado um relatório aos proprietários com os respectivos resultados (Anexo 2). Relativamente à recolha das amostras provenientes dos animais sacrificados em matadouro (*postmortem*), a sequência de acontecimentos foi a seguinte:

1º) No dia anterior à deslocação ao matadouro preparou-se o material necessário: tubos para as amostras de sangue, tesouras, facas, marcadores, etiquetas para marcar os indivíduos, sacos e frascos de plástico (para a recolha de linfonodos mesentéricos e fezes, respectivamente), ambos numerados, sacos de plástico do lixo (para a recolha de pulmões, pilares de diafragma e vértice do coração) e malas térmicas (para a colocação de todas as amostras e encaminhamento para o laboratório).

2º) No matadouro, uma pessoa ficou responsável pela recolha do sangue dos indivíduos para tubos sem anticoagulante, fazendo também a diferenciação entre machos e fêmeas; esta recolha foi feita durante a sangria. As restantes pessoas, normalmente três, ficaram responsáveis pela recolha de fezes para frascos de plástico numerados e dos linfonodos mesentéricos para sacos de plástico também numerados, sendo que uma das pessoas passou o material para as outras que recolheram as amostras; esta recolha foi feita durante a evisceração, ou seja, quando as vísceras abdominais caíram para o tabuleiro (este tabuleiro de aço inoxidável tinha um local de acesso para a zona de subprodutos que se encontrava no piso inferior do matadouro), as pessoas responsáveis seguraram-nas e recolheram as amostras. As vísceras torácicas foram penduradas para serem posteriormente inspeccionadas pelo Médico Veterinário.

3º) O último passo foi o da recolha das amostras torácicas. Aqui também estiveram duas pessoas responsáveis pela recolha das amostras enquanto as outras duas foram responsáveis por passar o material devidamente identificado; assim, nesta fase foram recolhidas de cada animal as seguintes amostras: o vértice do coração, os pulmões e os pilares do diafragma. Também foi observado e palpado o fígado de cada indivíduo em busca de lesões anatomopatológicas, como as conhecidas *milk spots*, causadas pela migração hepato-cardio-pulmonar, no seu trajecto hepático, das larvas de *A. suum*, bem como de formas larvares da Família Taeniidae como, por

exemplo, os cisticercos (*Cysticercus cellulosae*, larva de *Taenia solium*) e quistos hidáticos (metacestodo ou fase larvar – *Echinococcus polymorphus*; adulto - *Echinococcus granulosus*); em caso de positividade, os fígados seriam levados para o laboratório de Parasitologia da Faculdade de Medicina Veterinária de Cáceres para que fosse efectuada uma análise mais minuciosa dessas mesmas formas larvares.

4º) As amostras foram levadas para o laboratório do departamento de Parasitologia da Faculdade de Medicina Veterinária de Cáceres onde mais tarde foram processadas.

Quanto à recolha das amostras de javalis em montarias (*postmortem*), a sequência de acontecimentos foi a seguinte:

1º) No dia anterior de assistência à montaria preparou-se o material necessário: tubos para as amostras de sangue, tesouras, facas, marcadores, etiquetas para marcar os indivíduos, sacos e frascos de plástico, ambos numerados, sacos de plástico do lixo e malas térmicas.

2º) Na montaria, depois da inspecção *postmortem* efectuada *in situ* pelo Médico Veterinário Oficial, determinou-se a idade de cada javali, seguindo os padrões de erupção e desgaste dentário propostos por Sáenz de Buruaga *et al.*, (1991).

3º) Posteriormente, passou-se à recolha das amostras dos javalis, com o animal aberto e eviscerado; a recolha foi efectuada por duas pessoas, sendo que uma delas ficou responsável pela recolha das fezes, directamente do recto para um frasco devidamente identificado, e do sangue, que ficou acumulado na cavidade torácica depois da evisceração, para um tubo de sangue sem anticoagulante; a outra pessoa ficou responsável pela recolha dos pulmões e dos pilares do diafragma.

4º) As amostras foram levadas para o laboratório do departamento de Parasitologia da Faculdade de Medicina Veterinária de Cáceres onde mais tarde foram processadas.

#### **4.2.2. Metodologia diagnóstica – processamento de amostras**

##### **4.2.2.1. Métodos directos de diagnóstico**

###### **4.2.2.1.1. Técnicas coprológicas**

As técnicas coprológicas utilizadas no presente trabalho de investigação são descritas por Serrano *et al.*, (2010).

###### **4.2.2.1.1.1. Análise qualitativa**

A flutuação e a sedimentação, são técnicas qualitativas de concentração que se complementam e se utilizam de forma sistemática para o diagnóstico coprológico (Anexo 7).



Figura 23. Reagentes utilizados na técnica de flutuação utilizando solução saturada de NaCl

(Fotografia gentilmente cedida pelo departamento de Parasitologia da FVC-UEX)



Figura 24. Técnica de sedimentação em copo cónico

(Fotografia gentilmente cedida pelo departamento de Parasitologia da FVC-UEX)

#### 4.2.2.1.1.2. Análise quantitativa

A técnica de McMaster serve para realizar uma estimativa da carga parasitária através do número de oocistos, ovos ou larvas por grama de fezes, e portanto, do seu possível significado clínico (Anexo 7).

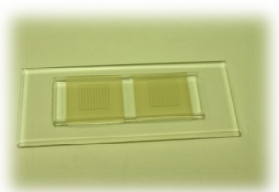


Figura 25. Câmara de McMaster

(Fotografia gentilmente cedida pelo departamento de Parasitologia da FVC-UEX)

#### 4.2.2.1.1.3. Coprocultura ou incubação de fezes

Nas parasitoses produzidas por agentes pertencentes à Subordem Strongylida, o estudo dos ovos encontrados nas fezes não é suficiente para determinar a família e/ou o género dos parasitas implicados, por falta de particularidades morfológicas diferenciadoras. Nestes casos, as fezes positivas depositam-se num meio que imite as condições ambientais naturais, nas quais os ovos possam embrionar, eclodir e experimentem uma dupla muda até alcançarem a fase ou estadio de larva 3 (L3), uma vez que estas têm características morfológicas que permitem a diferenciação entre géneros e espécies (Anexo 7).

#### 4.2.2.1.1.4. Método de Baermann para isolamento de larvas de Nematodos nas fezes

A montagem do aparelho e o procedimento estão descritos no Anexo 7. A identificação das L3 obtidas foi feita segundo Roepstorff & Nansen (1998). Assim, na presença de uma L3 sem bainha e com cauda bífida estaríamos perante uma L3 de *Strongyloides ransomi*; se, por outro lado, a L3 apresentasse bainha e 16 células intestinais teríamos de fazer a diferenciação entre as L3 de *Hyoststrongylus rubidus* e de *Oesophagostomum* spp., sendo que a primeira tem a cauda da bainha curta e a segunda tem a cauda da bainha longa.

#### 4.2.2.1.2. Exame de tecido muscular

##### 4.2.2.1.2.1. Método para o diagnóstico de *Trichinella* spp.

O método utilizado para o diagnóstico de *Trichinella* spp. foi o método Oficial de digestão péptica segundo o Regulamento (CE) 2075/2005. O fundamento da digestão péptica é semelhante ao processo fisiológico ao qual a carne é submetida no estômago de um animal. O



seu objectivo é libertar as larvas de *Trichinella* spp. enquistadas no tecido muscular. Como resultado, obtém-se um líquido de digestão onde se encontram as larvas em suspensão. O procedimento de diagnóstico é apresentado de forma resumida em Anexo 8.



Figura 26. Aparelho de digestão artificial péptica mediante agitador magnético

(Fotografia gentilmente cedida pelo departamento de Parasitologia da FVC-UEX)

#### **4.2.2.1.3.1. Método para o diagnóstico de *Sarcocystis* spp.**

O método utilizado para o diagnóstico de *Sarcocystis* spp. foi o de Erber (1977) modificado *a posteriori* por Serrano *et al.* (2010), descrito em Anexo 8.



Figura 27. Material utilizado na digestão artificial trípica

(Fotografia original)

#### **4.2.2.1.3. Exame das vísceras**

O fígado e o pulmão foram as vísceras examinadas com algum detalhe neste trabalho de investigação.

##### **4.2.2.1.3.1. Fígado**

Em relação ao fígado, esta amostra foi examinada macroscopicamente no matadouro, observando-se cuidadosamente para evidenciar a presença de lesões compatíveis com as *milk spots* causadas pelas larvas de *A.s suum* e de cisticercos ou quistos hepáticos.

##### **4.2.2.1.3.2. Pulmões**

Quanto aos pulmões, após a recolha no matadouro e nas montarias, mantiveram-se em refrigeração a 4°C de forma individualizada até ao seu processamento. Este realizou-se mediante uma técnica baseada na sua abertura manual com recurso a tesouras de dissecação seguindo a árvore brônquica, para a detecção directa e visual dos parasitas pulmonares, *Metastrongylus* spp. Iniciou-se com a secção longitudinal desde os brônquios principais até aos bronquíolos terminais, incidindo principal mas não exclusivamente nas lesões pulmonares, que geralmente se produzem nos extremos apicais dos lóbulos pulmonares nos casos de parasitismo intenso. Depois da detecção e captura, com a ajuda de pinças bico de pato, procedeu-se à identificação

microscópica do sexo e da espécie de cada um dos nemátodes, utilizando chaves dicotômicas (Tabela 6).

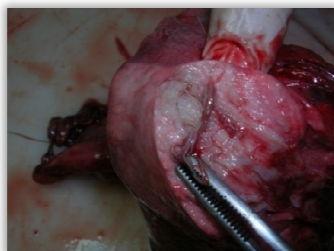


Figura 28. *Metastrongylus* spp. no pulmão de suíno

(Fotografia original)

#### **4.2.2.1.3.2.1. Quisto hidático**

Depois da observação macroscópica do quisto no fígado, procedeu-se à punção da membrana quística com a ajuda de uma seringa para a extracção do líquido hidático. De seguida, passou-se à ruptura da membrana quística e raspagem da areia hidática com uma lâmina de bisturi e colocada entre lâmina e lamela. Todo o material recolhido foi levado ao microscópio óptico:

- Se existisse protoescólex estávamos perante um quisto fértil;
- Se não existisse protoescólex estávamos perante um quisto infértil;

Se os quistos fossem férteis, a preparação seria corada com uma gota de Violeta de Genciana e:

- Se os protoescólex se tingissem, os quistos seriam não viáveis;
- Se os protoescólex não se tingissem, os quistos seriam viáveis.

#### **4.2.2.1.4. Protocolo da técnica *nested* PCR**

##### **4.2.2.1.4.1. Preparação e digestão dos linfonodos mesentéricos**

Dos linfonodos mesentéricos recolhidos em matadouro e armazenados em refrigeração a 4°C, foram escolhidos aleatoriamente para análise por *n*PCR para detecção de ADN de *T. gondii*, os linfonodos de 13 animais.

O procedimento de preparação e digestão dos linfonodos mesentéricos está descrito em Anexo 9.

##### **4.2.2.1.4.2. Extracção de ADN de *T. gondii* através de QIAamp® DNA Mini Kit (GIA GEN)**

É um método utilizado por numerosos autores. A purificação do extracto evita a presença de importantes inibidores da PCR como é o caso da hemoglobina.

O procedimento para cada uma das 13 amostras está descrito em Anexo 9.

##### **4.2.2.1.4.3. Amplificação de ADN de *T. gondii* pela técnica de *nested* PCR**

A amplificação *in vitro* da sequência do gene B1 de *T. gondii*, que se repete 35 vezes no genoma do parasita e se conserva nas diferentes estirpes (Burg *et al.*, 1989), realizou-se através da PCR. Adaptou-se o protocolo proposto por Fuentes (1999), que consta de duas amplificações consecutivas, utilizando-se como amostra na segunda, o produto obtido na inicial.

#### 4.2.2.1.4.3.1 Primeira amplificação (PCR1)

Preparou-se a mistura da reacção numa zona livre de ADN, sendo mantidas todas as medidas de isolamento necessárias para evitar contaminações (Kwok & Higuchi, 1989). O volume total de reacção para cada amostra foi de 25µl. A mistura utilizada consiste em 15µl de Master Mix 2x, que é composta por 50U/mL de *Taq* DNA polimerase 2x, um tampão de reacção (pH: 8,5; 400 µM dATP; 400µM dGTP; 400µM dCTP; 400 µM dTTP e 3 mM de MgCl<sub>2</sub>); 0,5µl de cada um dos *primers* (Tg-1 e Tg-2); 4µl água destilada ultra pura (H<sub>2</sub>O MilliQ) e 5µl de ADN problema. Na tabela 27 estão enunciados os componentes da mistura de reacção, o volume de cada um deles bem como a sua concentração e referência.

Tabela 27. Volume, concentração e referência dos componentes da mistura de reacção.

Componente	µl/amostra	Referência/concentrações
Master Mix 2x	15	Promega®
H <sub>2</sub> O MilliQ	4	Promega®
Primer Tg-1	0,5	Applied Biosystems (0,5 µM) 10 pmol/µl
Primer Tg-2	0,5	Applied Biosystems (0,5 µM)
ADN problema	5	-
TOTAL	25 µl	-

Como os *primers* amplificam uma zona específica do gene B1 de *T. gondii* (Burg *et al.*, 1989) de 194 pb, as suas sequências são as seguintes (Tabela 28).

Tabela 28. Denominação dos *primers* da PCR1, sequência e posição no gene B1 de *T. gondii*.

Denominação	Sequência	Posição no gene B1 <i>T. gondii</i>
Tg-1	5'-GGAAGTGCATCCGTTTCATGAG	694-714
Tg-2	5'-TCTTTAAAGCGTTTCGTGGTC	887-868

Uma vez preparadas as alíquotas da pré-mistura nos tubos de PCR de 0,2mL, foram mantidas em gelo a 4°C para evitar reacções inespecíficas. Numa dependência específica separada da de processamento de amostras, juntaram-se os 5µl de ADN problema. Foi também incluído de forma sistemática em todas as reacções um controlo positivo e outro negativo ou branco, no mesmo volume das amostras problema (Tabela 29).

Tabela 29. Amostra e procedência do controlo positivo e negativo.

Controlo	Amostra	Procedência
Positivo	ADN de taquizoítos obtidos de passagens em ratos. Estirpe RH <i>T. gondii</i> .	Área de Parasitología. Instituto de Salud Carlos III. Centro Nacional de Microbiología, Majadahonda (Madrid).
Negativo	Agua MilliQ	Área de Microbiología, Facultad de Veterinaria de Cáceres, UEx.

As amostras foram amplificadas num termociclador (*Applied Biosystems, GeneAmp® PCR System 9700*). O programa de ciclos seleccionado para este trabalho foi o proposto por Murphy *et al.*, (2007) (Tabela 30).

Tabela 30. Programa de ciclos de amplificação da PCR1.

Fase	Tempo	Temperatura	Ciclos
Desnaturação inicial	5 min	95°C	1
Desnaturação	1 min	95°C	35
Extensão	1 min	55°C	
Renaturalização	1 min	72°C	
Renaturalização final	5 min	72°C	1
Manutenção	∞	4°C	-

#### 4.2.2.1.4.3.2. Segunda amplificação (PCR2)

O protocolo desta fase foi semelhante ao anterior, incluindo os componentes, com a excepção dos *primers*. Utilizaram-se os *primers* Tg-3 e Tg-4 que têm a sua sequência alvo (PCR sequencial interna de 97 pb) dentro da região amplificada na PCR primária (Tabela 31).

Tabela 31. Denominação dos primers da PCR2, sequência e posição no gene B1 de *T. gondii*.

Denominação	Sequência	Posição no gene B1 <i>T. gondii</i>
Tg-3	5'-TGCATAGGTTGCAGTCACTG	757-776
Tg-4	5'-GGCGACCAATCTGCGAATACACC	853-831

Adicionaram-se 5µl da reacção primária diluídos a 1:100 em água MilliQ, que foi processada e adicionada numa terceira cabine específica, visto que o produto amplificado é potencialmente muito contaminante ao conter a sequência alvo amplificada em grandes quantidades. Seguiu-se o mesmo ciclo de amplificação que para a PCR1 (ver Tabela 30).

#### 4.2.2.1.4.4. Detecção dos produtos de amplificação

Efectuou-se mediante uma electroforese em gel de agarose (*Conda® D1 Low*) a 2% em tampão TAE 1x (0,4 M Tris-Acetato; 2 mM Na<sub>2</sub>EDTA). Para a visualização do ADN juntara-se 2µl de brometo de etídio (10 mg/mL *Mobio®*, diluído 1:100 000 para 100 mL de solução) num tabuleiro de electroforese horizontal a uma voltagem constante de 70V/102A durante 60 minutos. As amostras dos produtos a analisar misturaram-se com o tampão de carga (1µl *Orange/Blue 6x Loading Dye*, Promega® por cada 5µl de produto de PCR), utilizando-se um marcador de peso molecular de 17 segmentos (*L50 Step Ladder*, Sigma-Aldrich®).

Por último, para a leitura utilizou-se um sistema de fotodocumentação de géis.

#### 4.2.2.2. Métodos indirectos de diagnóstico

##### 4.2.2.2.1. ELISA indirecta para detectar anticorpos anti-*Toxoplasma gondii*

###### 4.2.2.2.1.1. Processamento e análise das amostras de sangue

Do sangue recolhido, depois da retracção do coágulo e prévia centrifugação a 698,75 rpm durante 10 minutos a 4°C, obteve-se o soro, que foi armazenado em tubos *racks* de polipropileno (*COSTAR®*, *Corning Incorporated*) de 1,2 mL de capacidade, identificados com o número da amostra, a data de recolha e o nome da exploração de origem, conservando-se a -65°C, até à sua posterior utilização. As 13 amostras foram processadas mediante a técnica de ELISA utilizando-se o kit *ELISA Toxoplasma gondii serum screening®*, *Institut Pourquier*, *Montpellier*, França.

###### 4.2.2.2.1.2. Reagentes utilizados

- Tampões de diluição constituídos pelo tampão PBS;
- Conjugado de peroxidase e anti IgG de ruminantes (monoclonais);
- Controlos, positivo (soro hiperimune) e negativo (soro não imune);
- Solução de revelação, constituída por TMB;
- Solução de paragem, constituída por H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,5M.

###### 4.2.2.2.1.3. Protocolo da técnica ELISA indirecta

O protocolo da técnica de ELISA indirecta está descrito em Anexo 10.



Figura 29. Material utilizado na realização da técnica ELISA indirecta

(Fotografia gentilmente cedida pelo departamento de Parasitologia da FVC-UEx)

###### 4.2.2.2.1.4. Interpretação dos resultados

Através da medição da absorvância ao comprimento de onda de 450nm, obtém-se a Densidade Óptica (D.O.) de cada amostra. Para a aplicação dos critérios de validação, é necessário, comprovar que o valor mínimo da D.O. média do controlo positivo é de 0,350 e que existe uma relação mínima de 3,5 entre a média da D.O. dos positivos e negativos. Uma vez realizada a validação, pode-se calcular a percentagem de reactividade (% R) de cada amostra aplicando a seguinte fórmula:

$$\text{Percentagem de reactividade: } \frac{\text{D.O. amostra problema} - \text{D.O. controlo negativo}}{\text{D.O. controlo positivo} - \text{D.O. controlo negativo}} \times 100$$

Os resultados são avaliados seguindo a Tabela 32.

Tabela 32. Interpretação dos resultados obtidos na ELISA indirecta.

Resultado (% Reactividade)	Interpretação	Comentário
<40 %	Negativo	Não existiu contacto com <i>T. gondii</i>
≥40 % e <50 %	Duvidoso	Possibilidade de contacto com <i>T. gondii</i>
≥ 50 %	Positivo	Infecção ou em contacto com <i>T. gondii</i>
≥ 200 %	Positivo alto	Infecção recente por <i>T. gondii</i>

#### 4.2.3. Equipamentos de análise

Para além do material comum de laboratório, tais como, provetas, pipetas, frascos, material cirúrgico, frigoríficos, congeladores, luvas, desinfetantes, etc., utilizaram-se ainda outros aparelhos (Anexo 11).

#### 4.2.4. Factores de risco: Inquérito de exploração

O inquérito de exploração foi efectuado para se estabelecer uma aproximação da caracterização do sector suíno da raça ibérica bem como tentar relacionar os possíveis factores de risco encontrados com a presença ou ausência de parasitas. Assim, o questionário é composto por 38 perguntas e dividido em quatro partes (I a IV) sendo a primeira parte relacionada com dados relativos ao proprietário/gestor, a segunda parte relacionada com dados relativos à exploração e efectivo suíno da raça ibérica, a terceira parte relacionada com a profilaxia e a quarta parte relacionada com a biossegurança. O inquérito foi organizado da seguinte forma (Anexo 3):

I. Dados relativos ao proprietário/gestor: grupo etário; habilitações académicas e número de anos dedicados à produção/criação de suínos de raça ibérica.

II. Dados relativos à exploração e efectivo suíno da raça ibérica: município da exploração; superfície da exploração e área dedicada à produção de porco Ibérico; avistamento de javalis na exploração; ocorrência de alterações nos animais e fases de produção existentes na exploração, efectivo e sistema de exploração.

III. Profilaxia: desparasitação do efectivo, com que produtos e frequência; quando é efectuada a desparasitação; avaliação da eficácia do tratamento e como e contra que doenças o efectivo é vacinado.

IV. Biossegurança: existência e tipo de vedações na exploração; caça desportiva ou privada; número de entradas e saídas na exploração; existência de rodilúvio à entrada da exploração e se tem desinfetante; existência de instalações próprias para os trabalhadores ou visitantes ocasionais; existência de silos e sua localização na exploração; zona de carga e descarga próxima ao não da entrada da exploração; mudança de roupa dos visitantes quando chegam à

exploração e onde; drenagem fácil dos terrenos; existência de refúgios para animais e de que tipo; existência e tipo de cercas/instalações de cobrição e de parto; limpeza e desinfecção das cercas/instalações de cobrição e parto após a sua utilização; existência e tipo de cercas/instalações de quarentena e isolamento sanitário, se é efectuada quarentena e sua duração; área/superfície das zonas de pastoreio e se foram recentemente pastoreadas; exploração de mais espécies e quais; as zonas de pastoreio são utilizadas por animais de outras explorações e quais; o pastoreio é efectuado em zonas com cursos de água e/ou áreas encharcadas; rotação de pastagens; pocilgas adequadas, limpas e secas; área de superfície das instalações onde se encontram os animais; existência de vazios sanitários e quantas vezes por ano; existência de orientação correcta, sistemas de encerramento adequados, extractores, janelas com redes mosquiteiras e paredes e telhados que assegurem o isolamento térmico nos pocilgas; constituição dos solos das pocilgas com materiais resistentes, materiais de fácil limpeza (SLAT) e inclinação adequada (0,5 a 1,5%), existência de um encerramento seguro dos colectores de drenagem de efluentes; existência de um plano de limpeza e desinfecção, controlo de insectos e prevenção para roedores e, por último, existência de cães e/ou gatos na exploração, sua entrada nas instalações de produção, desparasitação, vacinação ou ambas e com que frequência.

#### **4.2.5. Análise estatística**

A avaliação estatística dos resultados foi realizada recorrendo ao programa R<sup>®</sup> versão 2.15.0 e a sua extensão Rcmdr (*Rcommander*) versão 1.8-4. Inicialmente, os dados relativos à análise *antemortem* nas Explorações, incluindo os questionários, os dados relativos à análise *postmortem* nos Matadouros e nas Montarias foram registados em diferentes folhas de cálculo Microsoft Office Excel 2007 e posteriormente analisados recorrendo ao programa R<sup>®</sup> com a biblioteca Rcmdr. A análise de frequências e a comparação entre variáveis foram efectuadas com o teste exacto de *Fischer* e o método de *Sterne* foi utilizado para o cálculo de prevalências. O nível de significância escolhido foi de 5% ( $p < 0,05$ ). Foi calculada a razão de verosimilhança, *Odds ratio*, para a avaliação dos factores de risco com um intervalo de confiança de 95%.

### **4.3. Resultados**

Os resultados obtidos nesta dissertação são relativos à parasitofauna do porco Ibérico, *antemortem*, sendo estas amostras de fezes provenientes de 55 explorações de suínos de raça ibérica, analisadas por lotes de produção (cria, recria, engorda, montanha e reprodutores); serão expostos os resultados obtidos dos inquéritos de exploração efectuados aos produtores/gestores das explorações de porco Ibérico; também serão apresentados os resultados obtidos da análise de indivíduos, *postmortem*, provenientes de amostras biológicas de fezes, coração, pilares de diafragma, pulmões, sangue e linfonodos mesentéricos recolhidos em matadouro. Para além dos resultados obtidos relativos à parasitofauna do porco Ibérico, também



serão apresentados os resultados da parasitofauna de javalis por idades (jovens, adultos e idade indeterminada), *postmortem*, procedentes de amostras biológicas de fezes, pulmões e pilares de diafragma, recolhidas em montarias. Por último, serão também apresentados os factores de risco encontrados resultantes da análise dos inquéritos de exploração.

#### 4.3.1. Animais objecto de estudo e área de estudo

Os animais estudados neste trabalho de investigação foram os suínos da raça ibérica. No total, foram estudadas 55 explorações pecuárias por lotes e sistemas de produção. Para o conhecimento da parasitofauna do porco Ibérico por lotes e sistemas de produção, foram estudados 87 lotes, segundo as diferentes fases produtivas, com uma média de 25 animais por lote de reprodução, 196 animais na recria e 128 suínos na fase de engorda; desses lotes, 33 eram de montanha (37,93%), 17 de reprodutores (19,54%), 16 de engorda (18,39%), 12 de recria (13,79%) e nove de cria (10,34%) e, 48 desses lotes eram procedentes de sistema extensivo (65,52%), nove de intensivo (12,64%) e 14 de semi-extensivo (21,84%). Esses lotes eram originários de 55 explorações pecuárias de porco Ibérico pertencentes às Comunidades Autónomas da *Extremadura* e *Castilla y León* (Espanha), em que 62,07% deles eram oriundos da província de *Badajoz*, 27,59% de *Cáceres* e 10,34% de *Salamanca*. Nos gráficos 1, 2 e 3 estão enunciadas, respectivamente, as percentagens de lotes, sistemas e províncias a que pertencem os animais analisados, em função dos 87 lotes analisados.

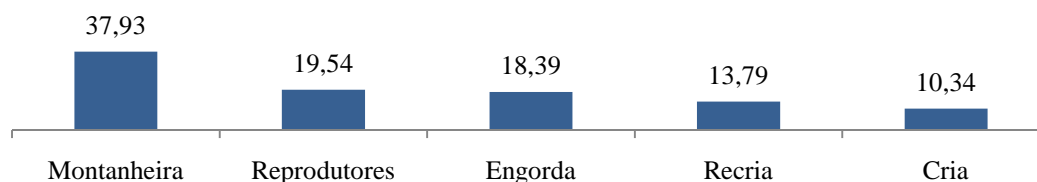


Gráfico 1. Percentagem de lotes a que pertencem os animais das 55 explorações pecuárias estudadas em função dos 87 lotes analisados.

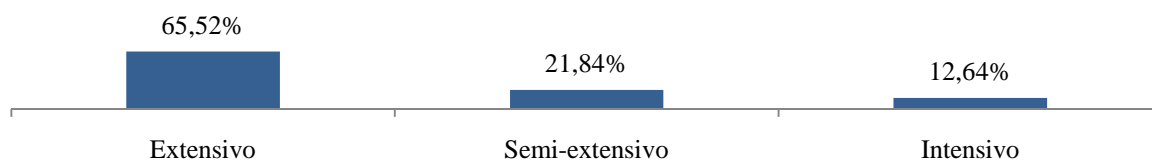


Gráfico 2. Percentagem de sistemas a que pertencem os animais das 55 explorações pecuárias estudadas em função dos 87 lotes analisados.

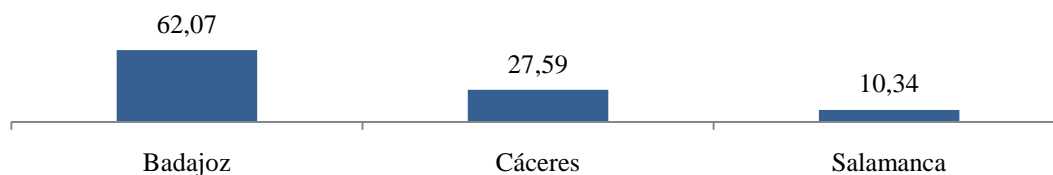


Gráfico 3. Percentagem de províncias a que pertencem os animais das 55 explorações pecuárias estudadas em função dos 87 lotes analisados.

Nas figuras 31 e 32 estão representados dois mapas, um da Comunidade Autónoma da *Extremadura* e outro de *Castilla y León* (Espanha), respectivamente.



Figura 30. Mapa representativo da Comunidade Autónoma da *Extremadura* (Espanha).

Fonte: <http://www.viajarporextemadura.com>.



Figura 31. Mapa representativo da Comunidade Autónoma de *Castilla y León* (Espanha).

Fonte: [http://europa.eu/abc/maps/regions/spain/leon\\_es.htm](http://europa.eu/abc/maps/regions/spain/leon_es.htm)

Relativamente ao estudo da realidade parasitológica individual do porco Ibérico ao nível de matadouros, nos gráficos 4, 5, 6, 7, 8, 9 e 10 estão enunciadas, respectivamente, as percentagens relativas aos lotes, aos sistemas, à pureza da raça, às comarcas, aos municípios, à idade e ao género a que pertencem os 100 animais analisados *postmortem*.

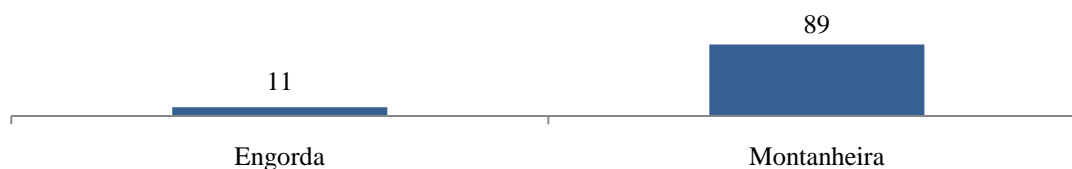


Gráfico 4. Percentagem de lotes a que pertencem os 100 animais analisados *postmortem* (procedentes de matadouro).

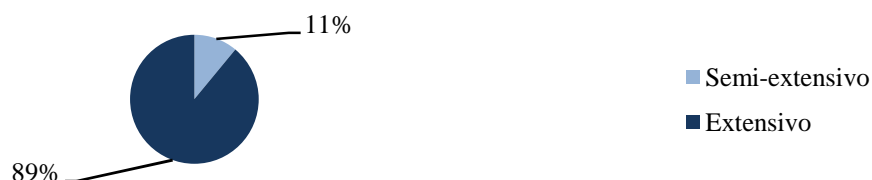


Gráfico 5. Percentagem de sistemas a que pertencem os 100 animais analisados, *postmortem* (procedentes de matadouro).



Gráfico 6. Percentagem relativa à pureza da raça a que pertencem os 100 animais analisados, *postmortem* (procedentes de matadouro).



Gráfico 7. Percentagem de comarcas a que pertencem os 100 animais analisados, *postmortem* (procedentes de matadouro).

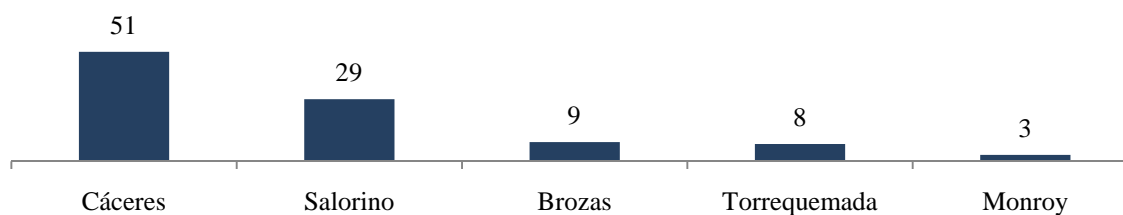


Gráfico 8. Percentagem de municípios a que pertencem os 100 animais analisados, *postmortem* (procedentes de matadouro).



Gráfico 9. Percentagem relativa às idades a que pertencem os 100 animais analisados, *postmortem* (procedentes de matadouro).

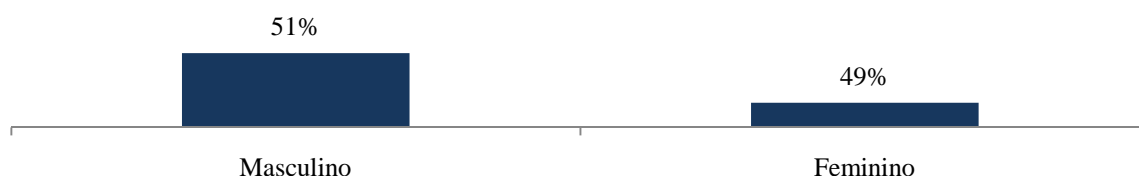


Gráfico 10. Percentagem relativa ao género a que pertencem os 100 animais analisados, *postmortem* (procedentes de matadouro).

Em relação ao estudo de javalis silvestres, é de notar que as montarias se caracterizam por uma certa tendência em relação a parâmetros como o sexo e a idade, uma vez que, geralmente são abatidos em maior número animais do sexo masculino e de idade adulta. No gráfico 11 estão enunciadas as percentagens relativas às idades dos lotes de javalis analisados.

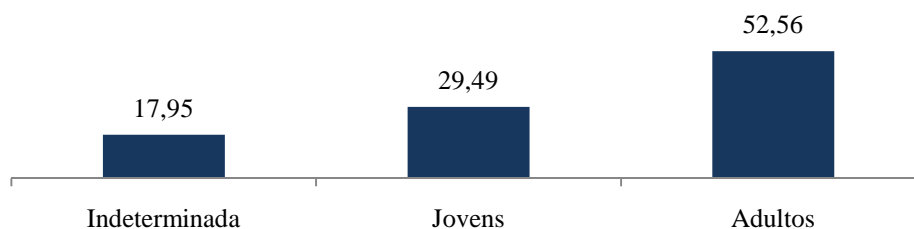


Gráfico 11. Percentagem relativa às idades dos lotes de javalis analisados.

Os animais analisados pertenciam a vários Municípios, em que todos os conhecidos pertencem à Comunidade Autónoma da *Extremadura*. Assim, um lote pertencia ao Município de Cáceres (1,28%), três lotes pertenciam ao Município de Villar del Rey (3,85%), sete lotes pertenciam ao Município de Carbajo (8,97%) e outros sete lotes ao Município de Aliseda (8,97%), oito lotes pertenciam ao Município de Alcántara (10,26%), 13 dos lotes pertenciam a Peñalsordo (16,67%) e, por último, 20 lotes pertenciam a Siruela (25,64%). No gráfico 12 estão enunciadas as percentagens relativas aos Municípios dos lotes de javalis analisados.

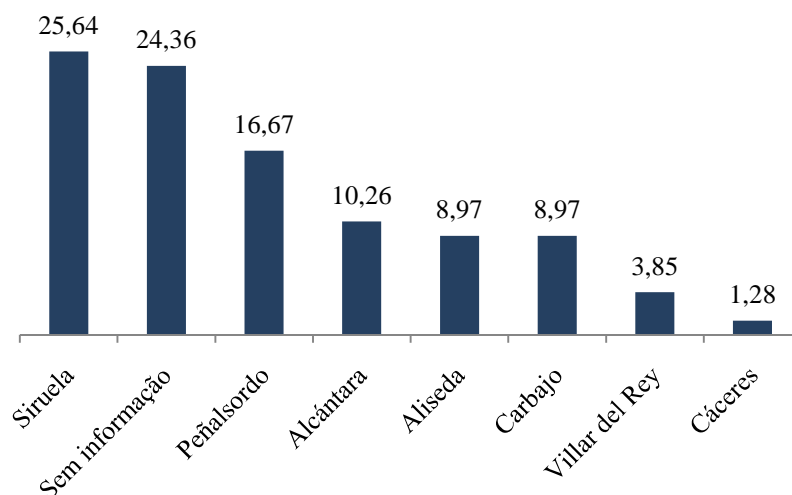


Gráfico 12. Percentagem relativa aos Municípios dos lotes de javalis analisados.

#### 4.3.2. Parasitofauna do porco Ibérico resultado da análise de fezes, *antemortem*, recolhidas em explorações

##### 4.3.2.1. Prevalência global

Na tabela 33 estão apresentados os resultados obtidos relativos à prevalência global dos parasitas encontrados nas amostras fecais provenientes de 55 explorações analisadas de suínos de raça ibérica.

Tabela 33. Prevalência global da parasitofauna do porco Ibérico nas 55 explorações analisadas

Parasita	Nº de explorações analisadas	Técnica utilizada	Resultado
<i>Ascaris suum</i>	55	Flutuação e sedimentação	7 12,7 (6,1-24,4)
<i>Balantidium coli</i>	55	Flutuação e sedimentação	52 94,5 (84,8-98,5)
Família Eimeriidae	55	Flutuação e sedimentação	31 56,4 (42,7-69,2)
<i>Metastrongylus</i> spp.	55	Flutuação e sedimentação	13 23,6 (14,0-36,5)
<i>Oesophagostomum</i> spp.	6	Método de Baermann	5 83,3 (41,1-99,1)
Subordem Strongylida	55	Flutuação e sedimentação	36 65,5 (51,8-77,5)
<i>Trichuris suis</i>	55	Flutuação e sedimentação	10 18,2 (9,7-30,8)

O resultado é apresentado em frequência absoluta seguido da prevalência (%) (intervalo de confiança de 95%).

A prevalência de cada um dos parasitas estudados nas 55 explorações revelou que a infecção por *B. coli*, Subordem Strongylida e Família Eimeriidae são as que tomam maiores valores, respectivamente, 94,5% (n=52); 65,5% (n=36) e 56,4% (n=31). Prevalências mais baixas foram encontradas para *Metastrongylus* spp. com 23,6% (n=13) explorações positivas seguido de *T. suis* com 18,2% (n=10) e *A. suum* com 12,7% (n=7).

#### 4.3.2.2. Prevalência em lotes de produção

Os resultados obtidos e apresentados seguidamente são relativos à prevalência dos parasitas encontrados nas amostras de fezes provenientes dos 87 lotes de produção analisados de suínos de raça ibérica. Nas tabelas 34, 35, 36, 37 e 38 estão apresentados, respectivamente, os resultados obtidos nos lotes de montanheira, engorda, reprodutores, cria e recria analisados.

Tabela 34. Prevalência da parasitofauna nos lotes analisados do porco Ibérico de montanheira

Parasita	Nº de lotes analisados	Técnica utilizada	Resultado
<i>Ascaris suum</i>	33	Flutuação e sedimentação	4 12,1 (4,2-28,5)
<i>Balantidium coli</i>	33	Flutuação e sedimentação	32 96,9 (83,9-99,8)
Família Eimeriidae	33	Flutuação e sedimentação	14 42,4 (26,8-59,9)
<i>Metastrongylus</i> spp.	33	Flutuação e sedimentação	6 18,2 (8,2-34,7)
<i>Oesophagostomum</i> spp.	2	Método de Baermann	2 100,0 (22,4-100,0)
Subordem Strongylida	33	Flutuação e sedimentação	17 51,5 (34,7-68,4)
<i>Trichuris suis</i>	33	Flutuação e sedimentação	4 12,1 (4,3-28,5)

O resultado é apresentado em frequência absoluta seguido da prevalência (%) (intervalo de confiança de 95%).

A prevalência de cada um dos parasitas estudados nos 33 lotes de montanheira revelou que a infecção por *B. coli*, Subordem Strongylida e Família Eimeriidae são as que tomam maiores valores, respectivamente, 96,9% (n=32); 51,5% (n=17) e 42,4% (n=14). Prevalências mais baixas foram encontradas para *Metastrongylus* spp. com 18,2% (n=6) explorações positivas; seguido de *T. suis* e *A. suum* ambos com 12,1% (n=4) (tabela 34).

Tabela 35. Prevalência da parasitofauna nos lotes analisados do porco Ibérico de engorda

Parasita	Nº de lotes analisados	Técnica utilizada	Resultado
<i>Ascaris suum</i>	16	Flutuação e sedimentação	1 0,63 (0,32-30,5)
<i>Balantidium coli</i>	16	Flutuação e sedimentação	16 100,0 (79,2-100,0)
Família Eimeriidae	16	Flutuação e sedimentação	14 68,7 (43,6-86,8)
<i>Metastrongylus</i> spp.	16	Flutuação e sedimentação	3 18,7 (5,3-43,6)
<i>Oesophagostomum</i> spp.	1	Método de Baermann	1 100,0 (4,9-100,0)
Subordem Strongylida	16	Flutuação e sedimentação	11 68,7 (43,6-86,8)
<i>Trichuris suis</i>	16	Flutuação e sedimentação	2 12,5 (2,3-37,2)

O resultado é apresentado em frequência absoluta seguido da prevalência (%) (intervalo de confiança de 95%).

A prevalência de cada um dos parasitas estudados nos 16 lotes de engorda revelou que a infecção por *B. coli*, Subordem Strongylida e Família Eimeriidae são as que tomam maiores valores, respectivamente, 100% (n=16) e 68,7% (n=11) para os dois últimos. Prevalências mais baixas foram encontradas para *Metastrongylus* spp. com 18,7% (n=3) explorações positivas; seguido de *T. suis* com 12,5% (n=2) e *A. suum* com 0,63% (n=1) (tabela 35).

Tabela 36. Prevalência da parasitofauna do porco Ibérico nos lotes de reprodutores analisados

Parasita	Nº de lotes analisados	Técnica utilizada	Resultado
<i>Ascaris suum</i>	17	Flutuação e sedimentação	2 11,8 (2,1-34,,9)
<i>Balantidium coli</i>	17	Flutuação e sedimentação	17 100,0 (80,4-100,0)
Família Eimeriidae	17	Flutuação e sedimentação	15 88,2 (65,0-97,9)
<i>Metastrongylus</i> spp.	17	Flutuação e sedimentação	6 35,3 (16,6-59,4)
<i>Oesophagostomum</i> spp.	4	Método de Baermann	3 75,0 (24,9-98,7)
Subordem Strongylida	17	Flutuação e sedimentação	11 64,7 (40,6-83,4)
<i>Trichuris suis</i>	17	Flutuação e sedimentação	7 41,2 (19,6-65,0)

O resultado é apresentado em frequência absoluta seguido da prevalência (%) (intervalo de confiança de 95%).

A prevalência de cada um dos parasitas estudados nos 17 lotes de reprodutores revelou que a infecção por *B. coli*, Família Eimeriidae e Subordem Strongylida são as que tomam maiores



valores, respectivamente, 100% (n=17); 88,2% (n=15) e 64,7% (n=11). Prevalências mais baixas foram encontradas para *T. suis* com 41,2 % (n=7) explorações positivas; seguido de *Metastrongylus* spp. com 35,3% (n=6) e *A. suum* com 11,8% (n=2) (tabela 36).

Tabela 37. Prevalência da parasitofauna do porco Ibérico nos lotes de cria analisados

Parasita	Nº de lotes analisados	Técnica utilizada	Resultado
<i>Ascaris suum</i>	9	Flutuação e sedimentação	0 0 (0-32,3)
<i>Balantidium coli</i>	9	Flutuação e sedimentação	6 66,7 (32,3-90,2)
Família Eimeriidae	9	Flutuação e sedimentação	7 77,8 (44,2-95,9)
<i>Metastrongylus</i> spp.	9	Flutuação e sedimentação	0 0 (0-32,3)
Subordem Strongylida	9	Flutuação e sedimentação	1 11,1 (0,6-44,3)
<i>Trichuris suis</i>	9	Flutuação e sedimentação	2 22,2 (4,1-55,8)

O resultado é apresentado em frequência absoluta seguido da prevalência (%) (intervalo de confiança de 95%).

A prevalência de cada um dos parasitas estudados nos 9 lotes de cria revelou que a infecção pela Família Eimeriidae e *B. coli* são as que tomam maiores valores, respectivamente, 77,8% (n=7) e 66,7% (n=6). Prevalências mais baixas foram encontradas para *T. suis* com 22,2% (n=2) explorações positivas; seguido da Subordem Strongylida com 11,1% (n=1). Os resultados foram negativos para *A. suum* e *Metastrongylus* spp. (tabela 37).

Tabela 38. Prevalência da parasitofauna do porco Ibérico nos lotes de recria analisados

Parasita	Nº de lotes analisados	Técnica utilizada	Resultado
<i>Ascaris suum</i>	12	Flutuação e sedimentação	0 0 (0-24,3)
<i>Balantidium coli</i>	12	Flutuação e sedimentação	11 91,7 (62,9-99,6)
Família Eimeriidae	12	Flutuação e sedimentação	10 83,3 (54,3-96,9)
<i>Metastrongylus</i> spp.	12	Flutuação e sedimentação	5 41,7 (18,1-70,6)
<i>Oesophagostomum</i> spp.	2	Método de Baermann	2 100,0 (22,4-100,0)
Subordem Strongylida	12	Flutuação e sedimentação	8 66,7 (37,0-87,7)
<i>Trichuris suis</i>	12	Flutuação e sedimentação	2 16,7 (3,0-45,7)

O resultado é apresentado em frequência absoluta seguido da prevalência (%) (intervalo de confiança de 95%).

A prevalência de cada um dos parasitas estudados nos 12 lotes de recria revelou que a infecção por *B. coli*, Família Eimeriidae e Subordem Strongylida são as que tomam maiores valores, respectivamente, 91,7% (n=11); 83,3% (n=10) e 66,7% (n=8). Prevalências mais baixas foram encontradas para *Metastrongylus* spp. com 41,7% (n=5) explorações positivas; seguido de *T. suis* com 16,7 % (n=2). Os resultados foram negativos para *A. suum* (tabela 38).

#### 4.3.2.3. Prevalência em sistemas de produção

Os resultados obtidos e apresentados seguidamente são relativos à prevalência dos parasitas segundo os sistemas de produção. Nas tabelas 39, 40 e 41 estão apresentados, respectivamente, os resultados obtidos nos sistemas extensivos, intensivos e semiextensivos analisados.

Tabela 39. Prevalência da parasitofauna do porco Ibérico nos sistemas extensivos analisados

Parasita	Nº de sistemas analisados	Técnica utilizada	Resultado
<i>Ascaris suum</i>	48	Flutuação e sedimentação	5 10,4 (4,2-22,7)
<i>Balantidium coli</i>	48	Flutuação e sedimentação	45 93,8 (82,6-98,3)
Família Eimeriidae	48	Flutuação e sedimentação	24 50,0 (35,9-64,1)
<i>Metastrongylus</i> spp.	48	Flutuação e sedimentação	11 22,9 (12,9-37,4)
<i>Oesophagostomum</i> spp.	4	Método de Baermann	4 100,0 (47,3-100,0)
Subordem Strongylida	48	Flutuação e sedimentação	29 60,4 (45,8-73,3)
<i>Trichuris suis</i>	48	Flutuação e sedimentação	9 18,8 (9,9-32,2)

O resultado é apresentado em frequência absoluta seguido da prevalência (%) (intervalo de confiança de 95%).

A prevalência de cada um dos parasitas estudados nos 48 sistemas extensivos revelou que a infecção por *B. coli*, Subordem Strongylida e Família Eimeriidae são as que tomam maiores valores, respectivamente, 93,8% (n=45); 60,4% (n=29) e 50,0% (n=24). Prevalências mais baixas foram encontradas para *Metastrongylus* spp. com 22,9% (n=11) explorações positivas; seguido de *T. suis* com 18,8% (n=9) e 10,4% (n=5) para *A. suum* (tabela 39).

Tabela 40. Prevalência da parasitofauna do porco Ibérico nos sistemas intensivos analisados

Parasita	Nº de sistemas analisados	Técnica utilizada	Resultado
<i>Ascaris suum</i>	9	Flutuação e sedimentação	1 11,1 (0,6-44,3)
<i>Balantidium coli</i>	9	Flutuação e sedimentação	8 88,9 (55,7-99,4)
Família Eimeriidae	9	Flutuação e sedimentação	7 77,8 (44,2-95,9)
<i>Metastrongylus</i> spp.	9	Flutuação e sedimentação	4 44,4 (16,9-74,9)
<i>Oesophagostomum</i> spp.	4	Método de Baermann	3 75,0 (24,9-98,7)
Subordem Strongylida	9	Flutuação e sedimentação	5 55,6 (25,1-83,1)
<i>Trichuris suis</i>	9	Flutuação e sedimentação	2 22,2 (4,1-55,8)

O resultado é apresentado em frequência absoluta seguido da prevalência (%) (intervalo de confiança de 95%).

A prevalência de cada um dos parasitas estudados nos 9 sistemas intensivos revelou que a infecção por *B. coli*, Família Eimeriidae e Subordem Strongylida são as que tomam maiores valores, respectivamente, 88,9% (n=8); 77,8% (n=7) e 55,6% (n=5). Prevalências mais baixas foram encontradas para *Metastrongylus* spp. com 44,4% (n=4) explorações positivas; seguido de *T. suis* com 22,2% (n=2) e 11,1% (n=1) para *A. suum* (tabela 40).

Tabela 41. Prevalência da parasitofauna do porco Ibérico nos sistemas semiextensivos analisados

Parasita	Nº de sistemas analisados	Técnica utilizada	Resultado
<i>Ascaris suum</i>	14	Flutuação e sedimentação	2 14,3 (2,659-42, 6)
<i>Balantidium coli</i>	14	Flutuação e sedimentação	13 92,9 (68,3-99,6)
Família Eimeriidae	14	Flutuação e sedimentação	12 85,7 (57,4-97,4)
<i>Metastrongylus</i> spp.	14	Flutuação e sedimentação	4 28,6 (10,4-57,4)
<i>Oesophagostomum</i> spp.	2	Método de Baermann	1 50,0 (2,5-93,7)
Subordem Strongylida	14	Flutuação e sedimentação	10 71,4 (42,6-89,6)
<i>Trichuris suis</i>	14	Flutuação e sedimentação	2 14,3 (2,6-42,6)

O resultado é apresentado em frequência absoluta seguido da prevalência (%) (intervalo de confiança de 95%).

A prevalência de cada um dos parasitas estudados nos 14 sistemas semiextensivos revelou que a infecção por *B. coli*, Família Eimeriidae e Subordem Strongylida são as que tomam maiores valores, respectivamente, 92,9% (n=13); 85,7% (n=12) e 71,4% (n=10). Prevalências mais baixas foram encontradas para *Metastrongylus* spp. com 28,6% (n=4) explorações positivas; seguido de *T. suis* e *A. suum* com 14,3% (n=2) (tabela 41).

#### 4.3.3. Resultados dos inquéritos de exploração

Os resultados apresentados seguidamente foram obtidos, após tratamento estatístico, a partir das respostas dos 49 inquéritos efectuados aos proprietários/gestores de um total de 55 explorações analisadas no presente trabalho. Estes resultados serão apresentados respeitando a ordem utilizada no questionário (Anexo 3).

##### 4.3.3.1. Resultados dos dados relativos ao proprietário/gestor

Na 1ª questão referente ao grupo etário em que se enquadra a população inquirida, obteve-se uma média de 52 anos com um desvio padrão (sd) de 9,5.

Relativamente à 2ª questão, 30 dos inquiridos revelaram ter apenas os estudos primários (66,1%), 11 tinham formação superior (19,6%) e 8 tinham o Bacharelato (14,3%) (Gráfico 13).

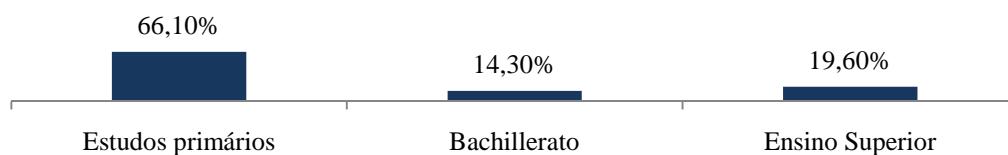


Gráfico 13. Habilitações académicas dos inquiridos, em termos percentuais.

Em relação à 3ª pergunta relativa ao número de anos dedicados à produção/criação de suínos de raça ibérica, a média obtida foi de 23 anos com sd igual a 11,5.

##### 4.3.3.2. Resultados dos dados relativos à exploração e efectivo suíno de raça ibérica

Na tabela 42 está elaborada a distribuição das explorações analisadas por Municípios, em termos percentuais.

Tabela 42. Distribuição das explorações analisadas por Municípios, em termos percentuais.

3,23% Alburquerque	4,84% Alconchel	1,61% Alcuescar
1,61% Alía	3,23% Aliseda	3,23% Arroyomolinos
6,45% Badajoz	1,61% Brozas	1,61% Burguillos del Cerro
4,84% Cáceres	1,61% Campillo de Azaba	1,61% Ceclavín
3,23% Cheles	1,61% Coria	1,61% El Bodón
1,61% Espeja	11,29% Fregenal de la Sierra	1,61% Gallegos de Argañán
1,61% Herrera del Duque	1,61% Herreruela	1,61% Higuera la Real
3,23% Ituro de Azaba	3,23% Jerez de los Caballeros	1,61% Mérida
1,61% Moheda de Gata	1,61% Monroy	3,23% Montánchez
1,61% Montijo	1,61% Plasencia	1,61% Puebla de Obando
1,61% Salorino	1,61% Salvatierra de los Barros	1,61% Torreorgaz
1,61% Torquemada	1,61% Usagre	1,61% Valencia del Mombuey
4,84% Valverde de Burguillos	1,61% Valverde de Leganés	3,23% Villanueva del Fresno

Relativamente ao avistamento de javalis na exploração, 39 dos inquiridos (69,64%) responderam que sim e os restantes 10 responderam que não (30,36%). Na 7ª pergunta relativa aos sistemas de produção existentes na exploração, verificou-se que em 48 delas existe o sistema extensivo (77,42%), em 14 existe o sistema semi-extensivo (22,58%) e em 9 existe o sistema intensivo (14,52%) (Gráfico 14); quanto aos animais existentes em cada exploração em 2007 e em 2012, obteve-se, respectivamente, uma média de 405 (sd=433) e 409 (sd=645) animais.

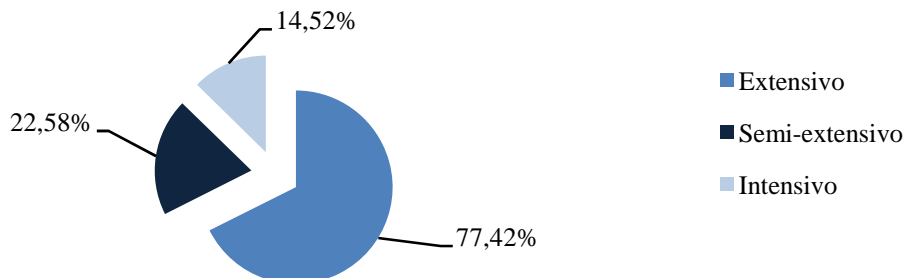


Gráfico 14. Sistemas de produção existentes na exploração, em termos percentuais.

Relativamente à presença de alterações nos animais, verificou-se que a tosse/pneumonia foi a alteração mais nomeada pelos produtores com 32,14% (n=18), seguida da morte com 19,65% (n=11), a diarreia aguda/crónica com 10,71% (n=6) e o emagrecimento com 8,93% (n=5); nenhum inquirido referiu o aborto como alteração presente nos seus animais. Em relação à faixa etária onde essas alterações ocorreram, verificou-se que os lotes de cria e recria foram os mais afectados pela tosse/pneumonia com 22,22% (n=4) e 77,78% (n=14), respectivamente; também verificaram que os mesmos lotes, cria e recria, foram os mais afectados pela diarreia aguda/crónica com 83,34% (n=5) e 16,67% (n=1), respectivamente; em relação ao emagrecimento, o lote mais afectado foi o dos reprodutores com 75% (n=3), seguido da recria

com 25% (n=2). No gráfico 15 estão apresentados os resultados relativos à ocorrência de alterações nos animais, em termos percentuais.

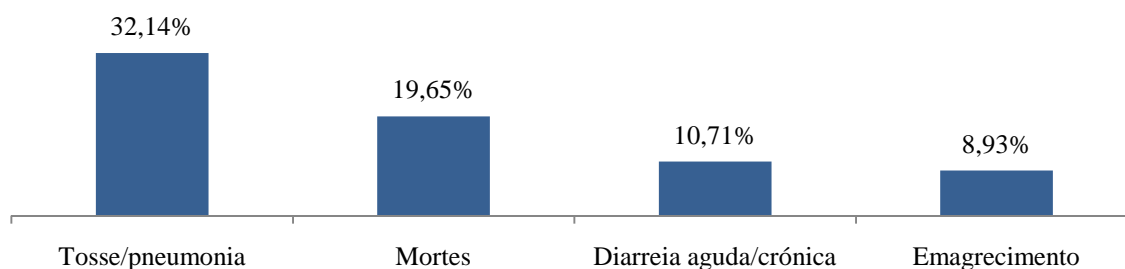


Gráfico 15. Ocorrência de alterações nos animais, em termos percentuais.

#### 4.3.3.3. Resultados das medidas de profilaxia aplicadas na exploração

Na 9ª questão do inquérito referente à desparasitação do efectivo, 42 produtores (75%) desparasitam o seu efectivo e apenas sete não o fazem (25%) (gráfico 16); relativamente aos produtos utilizados na desparasitação (gráfico 17), 13 produtores utilizam a Ivermectina (54,17%), três aplicam o Levamisol (12,50%), dois usam o Albendazol (8,33%), dois aplicam o Febantel (8,33%), dois utilizam o Febendazol (8,33%), um emprega o Flubendazol (4,17%) e outro aplica o Trimedal (4,17%); em relação à frequência de desparasitação (gráfico 18), 13 produtores desparasitam 1 vez por ano (33,33%), 17 fazem duas desparasitações anuais (43,59%) e nove desparasitam o seu efectivo três vezes por ano (23,08%).

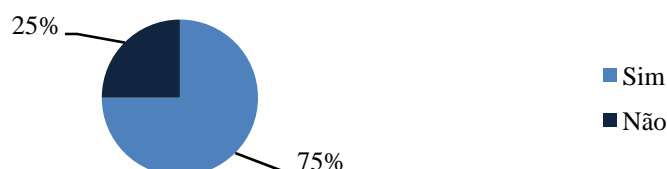


Gráfico 16. Desparasitação do efectivo, em termos percentuais.

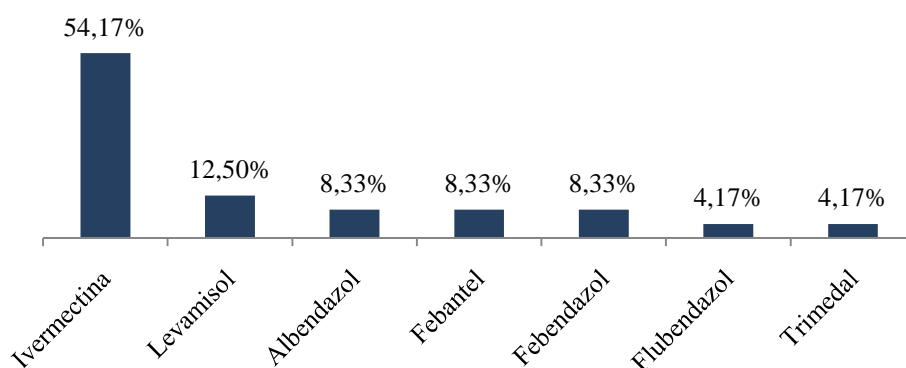


Gráfico 17. Produtos utilizados na desparasitação, em termos percentuais.

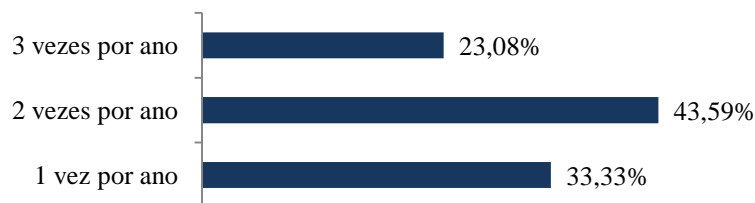


Gráfico 18. Frequência de desparasitação, em termos percentuais.

Na 10ª questão referente à altura do ano em que os produtores efectuam a desparasitação (gráfico 19), um referiu que desparasita o seu efectivo no Inverno e na Primavera (3,33%), seis desparasitam na Primavera (20%), sete efectuam a desparasitação no Outono (23,33%) e 16 aplicam o desparasitante na Primavera e no Outono (53,34%).

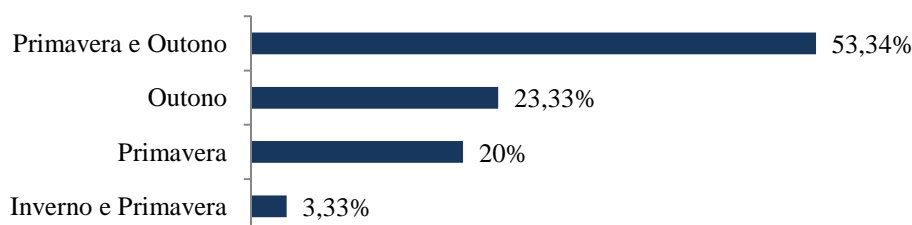


Gráfico 19. Desparasitação em função da estação do ano, em termos percentuais.

A 11ª pergunta do inquérito é relativa à avaliação da eficácia do tratamento anti-parasitário (gráfico 20) e de como é feita essa avaliação. Três inquiridos (6,12%) responderam de forma afirmativa, sendo que um deles faz a avaliação por coprologia (33,33%) e dois fazem-na por avaliação sintomática (66,67%); os restantes 46 produtores (93,88%) não fazem avaliação da eficácia do tratamento.

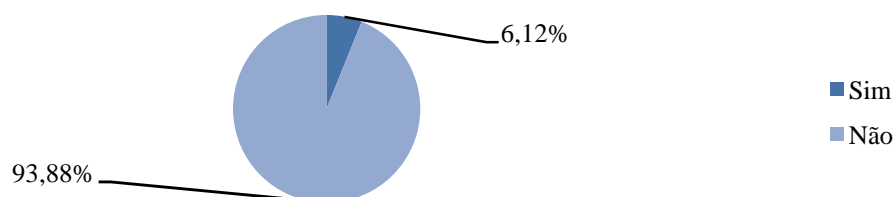


Gráfico 20. Avaliação da eficácia do tratamento anti-parasitário, em termos percentuais.

A questão número 12 é relativa ao programa profiláctico vacinal do efectivo. De acordo com os resultados obtidos (gráfico 21), 46 produtores (92,86%) vacinam contra Aujeszky, 45 vacinam contra Mal Rubro (91,07%), 10 vacinam contra a Pasteurelose (17,86%), oito contra a Parvovirose (14,29%) e Clostridiose (14,29%), cinco vacinam contra a Circovirose (8,93%) e um contra a Colibacilose (1,79%) e Micoplasma (1,79%).



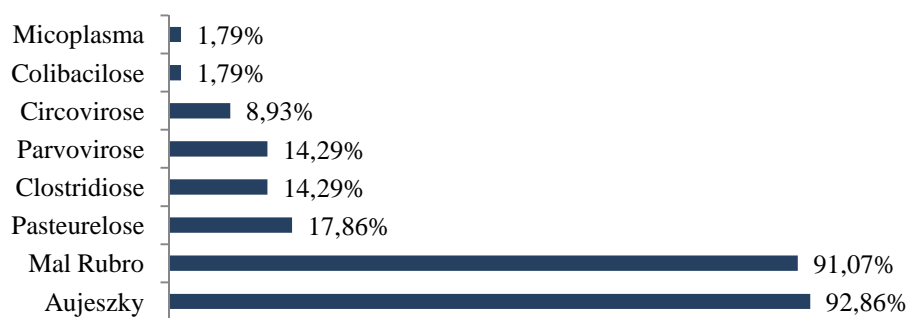


Gráfico 21. Programa profilático vacinal nas explorações, em termos percentuais.

#### 4.3.3.4. Resultados das medidas de biossegurança aplicadas na exploração

Na 13ª questão relativa à existência e tipo de vedações nas explorações, 47 dos inquiridos (96,43%) responderam que existem vedações na sua exploração e apenas dois referiram que não (3,57%) (gráfico 22); quanto ao tipo de vedação, 44 produtores (94,44%) disseram que as vedações eram simples e nenhum referiu a existência de vedações duplas; 23 disseram que as vedações eram de pedra (42,59%) e 11 (20,37%) referiram que havia perfurações.

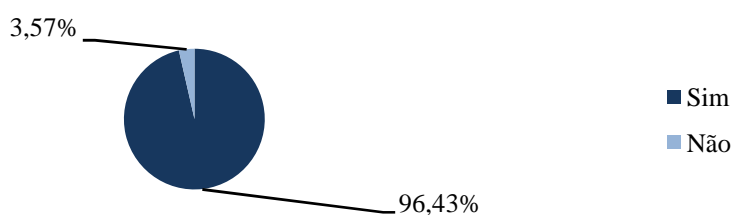


Gráfico 22. Presença de vedações na exploração, em termos percentuais.

Os resultados obtidos na 14ª questão do inquérito mostram que em 21 explorações (37,5%) existe a prática de caça desportiva e em 24 existe a prática de caça privada (42,86%). Relativamente ao número de entradas e saídas existentes na exploração, a média obtida foi de duas. Na 16ª questão referente à existência de rodilúvio à entrada da exploração, os resultados obtidos mostram que 20 explorações (48,21%) têm rodilúvio e 29 não possuem esta medida de biossegurança (51,79%) (gráfico 23); das explorações que têm rodilúvio, apenas 9 têm desinfetante (33,33%), as restantes 11 não (66,67%) (gráfico 24).

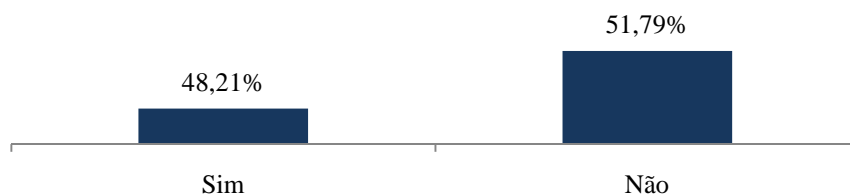


Gráfico 23. Existência de rodilúvio na exploração (%).

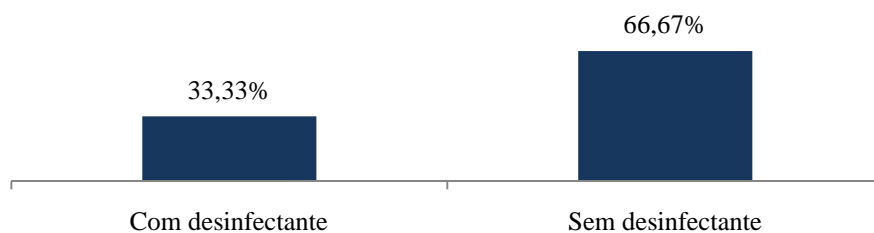


Gráfico 24. Existência de desinfetante no rodilúvio (%).

Os resultados obtidos na questão 17 mostram que em 17 explorações (42,86%) existem instalações próprias para os trabalhadores ou visitantes ocasionais e em 32 essas instalações não existem (57,14%) (gráfico 25).

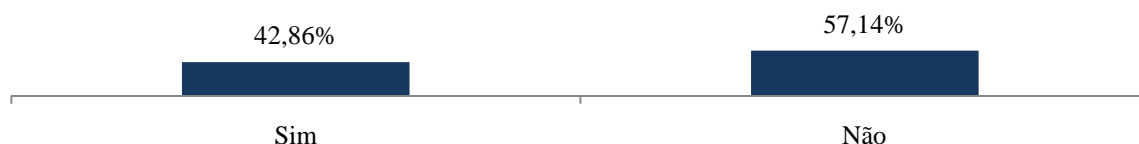


Gráfico 25. Existência de instalações próprias para os trabalhadores ou visitantes ocasionais na exploração, em termos percentuais.

Na 18ª questão referente à existência de silos e sua proximidade com a entrada da exploração, em 16 explorações (41,07%) não existem silos e em 33 existem (58,93%) (gráfico 26), estando 17 deles localizados perto da entrada (51,52%) e 16 (48,48%) longe desta (gráfico 27).

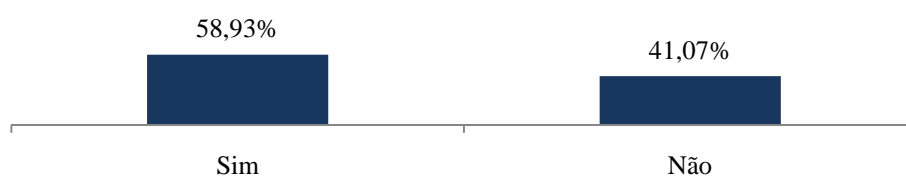


Gráfico 26. Existência de silos na exploração, em termos percentuais.

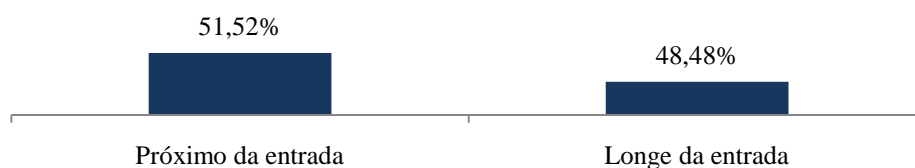


Gráfico 27. Proximidade dos silos da entrada da exploração (%).

Em relação à questão 19, em 30 explorações (53,57%) a zona de carga e descarga de animais localiza-se perto da entrada, em 19 a carga e descarga não é realizada nas proximidades da entrada da exploração (46,43%) (gráfico 28).

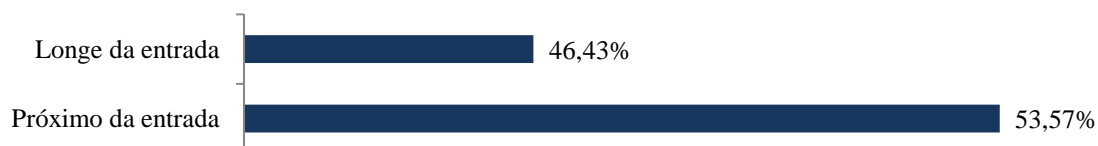


Gráfico 28. Proximidade da zona de carga e descarga de animais da entrada da exploração, em termos percentuais.

Na 20ª questão do inquérito os resultados obtidos mostram que em 38 explorações (80,36%) os visitantes não mudam de roupa quando chegam à exploração, em apenas 11 explorações (19,64%) isso acontece (gráfico 29) e em todas elas isso é realizado num vestuário (100%).

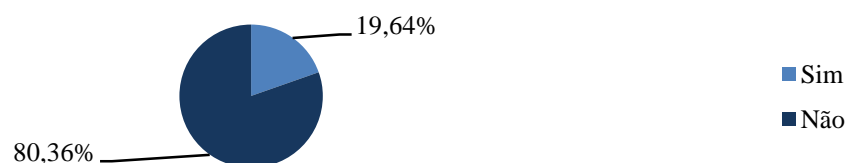


Gráfico 29. Percentagem de explorações em que os visitantes mudam de roupa à chegada.

Na 21ª pergunta, 37 dos inquiridos (78,57%) responderam que os terrenos da sua exploração drenam com facilidade e apenas 12 responderam que não (21,43%) (gráfico 30).

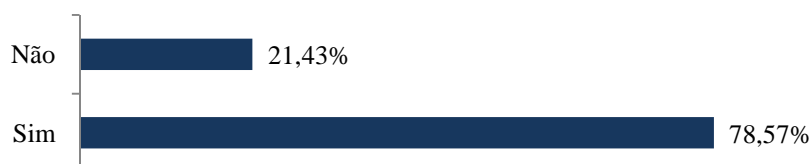


Gráfico 30. Facilidade da drenagem dos terrenos, em termos percentuais.

Na 22ª questão referente à existência e tipo de refúgios para os animais, em 11 explorações (19,64%) não existem refúgios e em 38 existem (80,36%) (gráfico 31), sendo que 24 desses refúgios são barracões (53,33%) e 14 são feitos de chapa (46,67%).



Gráfico 31. Existência de refúgios para os animais, em termos percentuais.

Os resultados obtidos na 23ª questão mostram que em 18 explorações (44,64%) não existem cercas/instalações de cobrição e de parto e que em 31 existem essas instalações (55,36%) (gráfico 32), sendo 29 (93,55%) simples e apenas 2 (6,45%) duplas (gráfico 33).



Gráfico 32. Existência de cercas/instalações de cobrição e de parto (%).



Gráfico 33. Tipo de cercas de cobrição e parto, em termos percentuais.

Na 24ª questão do inquérito, os resultados obtidos mostram que em 20 explorações (62,50%) as cercas/instalações, após a sua utilização, são limpas e em 12 isso não acontece (37,50%) (gráfico 34); em 19 aplicam-se desinfetantes (59,38%) e em 13 não (40,62%) (gráfico 35).



Gráfico 34. Limpeza das cercas/instalações após a sua utilização (%).



Gráfico 35. Desinfecção das cercas/instalações após a sua utilização (%).

Os resultados obtidos na 25ª pergunta do questionário mostram que em 28 explorações (62,50%) não existem cercas/instalações de quarentena e isolamento sanitário, existindo em 21 (37,50%) (gráfico 36); das explorações que têm essas cercas/instalações, em 15 não se efectua quarentena (71,43%), sendo esta efectuada apenas em seis (28,57%) (gráfico 37); quando inquiridos sobre a duração da quarentena, três produtores responderam 15 dias, um respondeu 30 dias e outro respondeu 40 dias.



Gráfico 36. Existência de cercas/instalações de quarentena e isolamento sanitário (%).

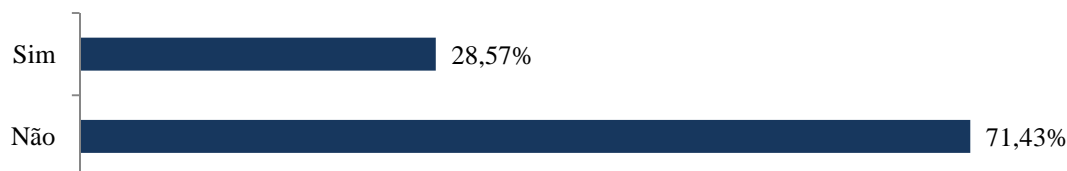


Gráfico 37. Realização de quarentena em função da existência de cercas/instalações (%).

Na questão 25.1) do inquérito sobre cercas/instalações de quarentena e isolamento sanitário, os resultados obtidos mostram que 15 delas (68,18%) são simples, uma é dupla (4,55%), seis estão longe das cercas de produção (27,27%), 14 estão limpas (63,64%) e 15 são compostas por telhados e muros de protecção (68,18%) (gráfico 38).

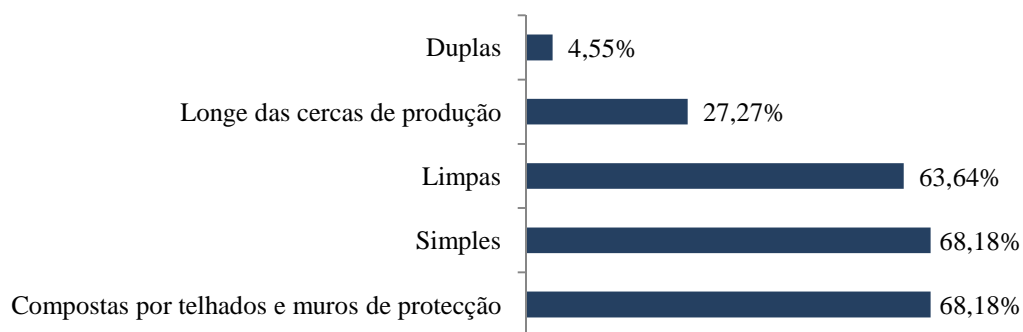


Gráfico 38. Características das cercas/instalações de quarentena e isolamento sanitário (%).

Os resultados obtidos na 26ª questão mostram que em 20 das explorações (90,01%) as zonas de pastoreio foram recentemente pastoreadas aquando do preenchimento do inquérito e da colheita das amostras de fezes, sendo que apenas em duas dessas zonas não tinham sido pastoreadas recentemente (9,09%) (gráfico 39).

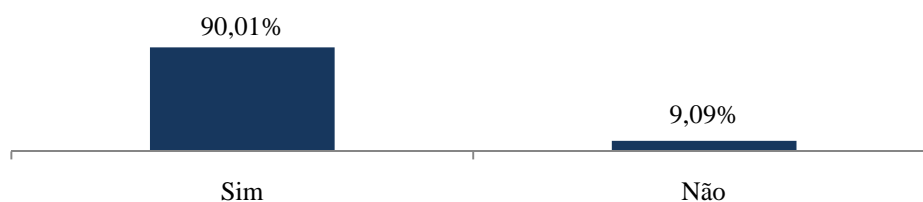


Gráfico 39. Explorações com zonas de pastoreio pastoreadas recentemente (%).

Na questão número 27, os resultados obtidos mostram que em oito explorações (26,79%) não se criam mais espécies animais para além dos suínos, em 41 delas (73,21%) são criadas outras espécies animais (gráfico 40), sendo em 23 dos casos (56,10%) os Bovinos, em 17 os Ovinos (41,46%) e em uma delas (2,44%) as galinhas (gráfico 41).

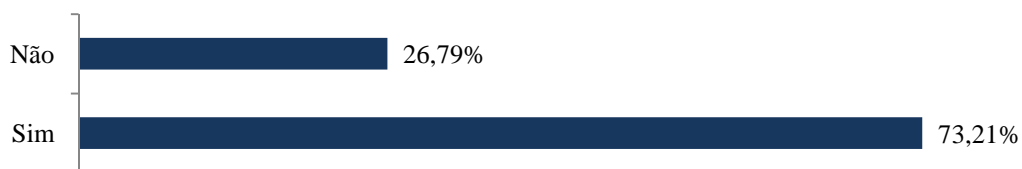


Gráfico 40. Explorações onde se criam mais espécies animais para além dos suínos (%).

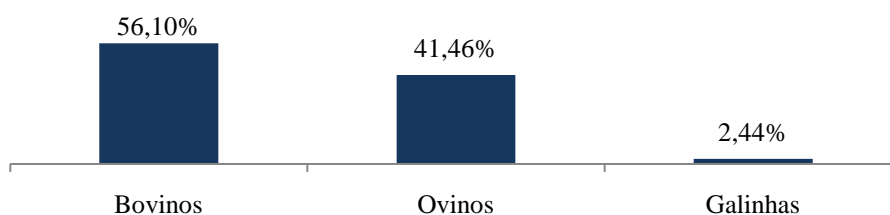


Gráfico 41. Espécies animais criadas na exploração, para além dos suínos (%).

Os resultados obtidos na 28ª questão mostram que em 37 explorações (78,57%) as zonas de pastoreio não são pastoreadas por animais de outras explorações e que em 12 isso acontece (21,43%) (gráfico 42); sendo que em seis delas é efectuado por Bovinos e nas outras seis por Ovinos.

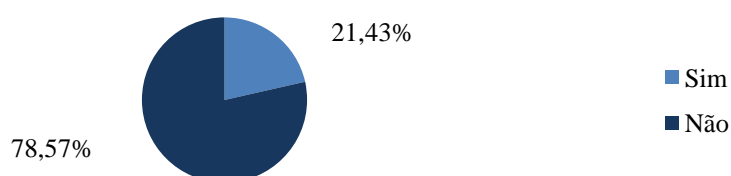


Gráfico 42. Explorações em que as zonas de pastoreio são pastoreadas por animais de outra exploração, em termos percentuais.

Na 29ª questão os resultados obtidos mostram que em 34 explorações (63,96%) o pastoreio é efectuado em zonas com cursos de água e/ou em áreas encharcadas e em 15 delas (37,04%) isso não acontece (gráfico 43).



Gráfico 43. Explorações em que o pastoreio é efectuado em zonas com cursos de água e/ou áreas encharcadas (%).

Nos resultados obtidos na 30ª questão, em 21 explorações (47,17%) existe a prática da rotação das pastagens e em 28 essa prática não existe (52,83%) (gráfico 44).



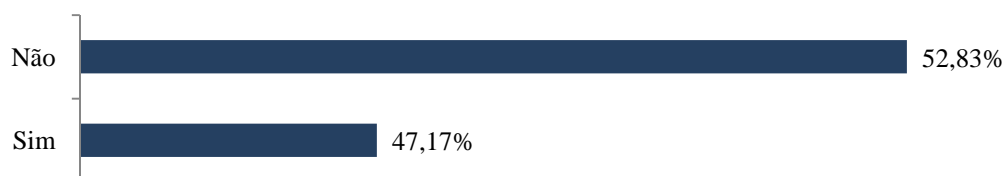


Gráfico 44. Explorações que fazem rotação das pastagens, em termos percentuais.

Na 31ª questão os resultados obtidos mostram que em 39 explorações (70,91%) as pocilgas são consideradas adequadas, limpas e secas e em 10 explorações (29,09%) isso não acontece (gráfico 45).

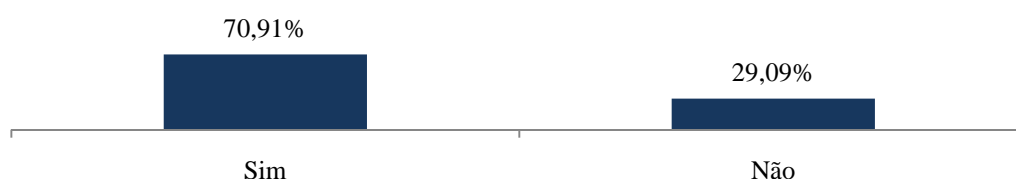


Gráfico 45. Percentagem de explorações com pocilgas adequadas, limpas e secas.

Os resultados obtidos na 33ª questão mostram-nos que em 40 explorações (72,73%) não há vazios sanitários, apenas em nove isso acontece (27,27%) (gráfico 46); a média de vezes por ano em que isso sucede é uma.

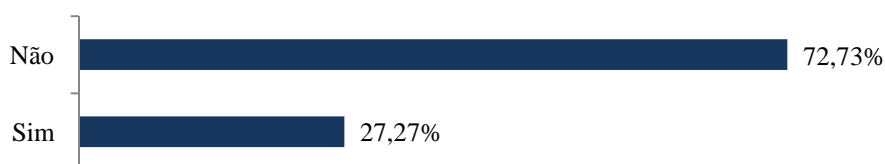


Gráfico 46. Explorações onde existe vazio sanitário, em termos percentuais.

Na 34ª questão, os resultados obtidos referentes às características das pocilgas mostram que de um total de 49 explorações analisadas, 32 têm pocilgas com uma orientação correcta (61,54%), 22 possuem sistemas de encerramento adequados (48,08%), uma possui extractores (7,69%), nove têm janelas com redes mosquiteiras (23,08%) e 22 possuem paredes e telhados que asseguram isolamento térmico (48,08%) (gráfico 47).

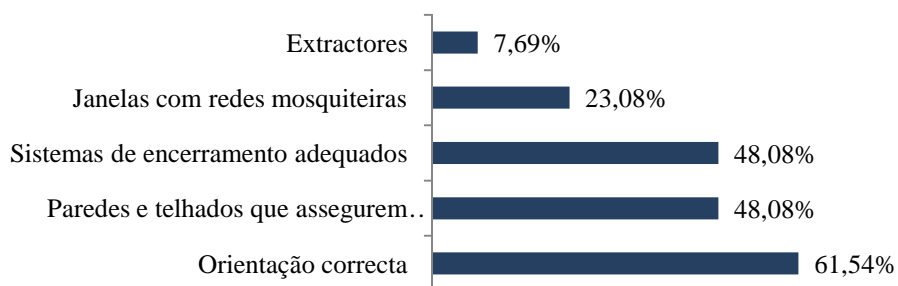


Gráfico 47. Características das pocilgas presentes nas explorações (%).

Os resultados obtidos na 35ª questão relativa às características dos solos das pocilgas mostram que em 40 explorações (76,92%) os solos são constituídos por materiais resistentes, em 17 os solos são compostos por materias de fácil limpeza (SLAT) (32,69%) e em 19 os solos apresentam uma inclinação adequada (0,5 a 1,5%) (36,54%) (gráfico 48).

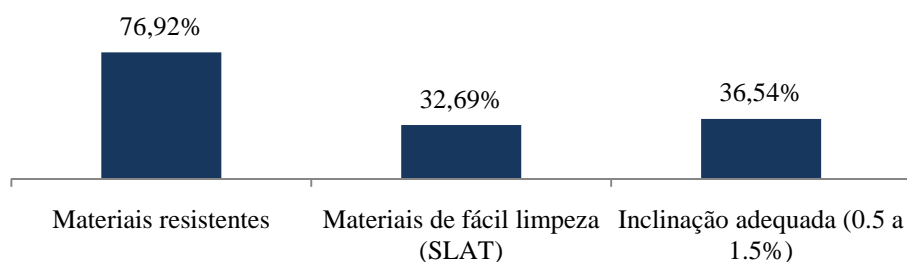


Gráfico 48. Características dos solos das pocilgas (%).

Na 36ª questão, os resultados obtidos mostram que em 45 explorações (80,36%) os colectores de drenagem de efluentes não têm um encerramento seguro, apenas em quatro isso acontece (16,64%) (gráfico 49).



Gráfico 49. Explorações que têm colectores de drenagem de efluentes com um encerramento seguro (%).

Os resultados obtidos na 37ª mostram que em 42 explorações (87,50%) não existe um plano de limpeza e desinfecção; em 47 não existe um plano de controlo de insectos (96,43%) e em 42 não existe um plano de prevenção para roedores (87,50%) (gráfico 50).

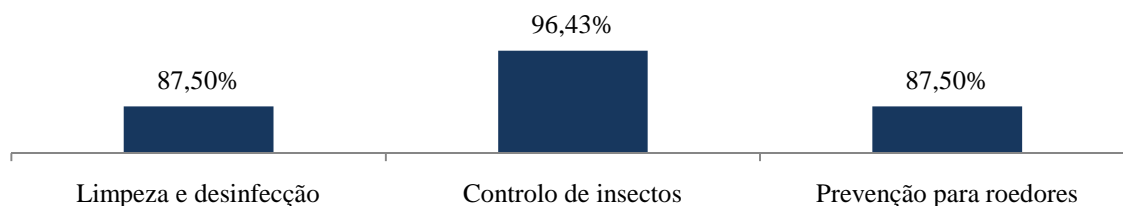


Gráfico 50. Explorações onde não existem planos de limpeza e desinfecção, controlo de insectos e prevenção para roedores (%).

Na 38ª questão, os resultados obtidos mostram que em 42 explorações existem cães e/ou gatos; em 37 delas os cães e/ou gatos entram nas instalações; em 24 dos casos os cães e/ou gatos não são desparasitados e em 33 dos casos não são vacinados (gráfico 51).

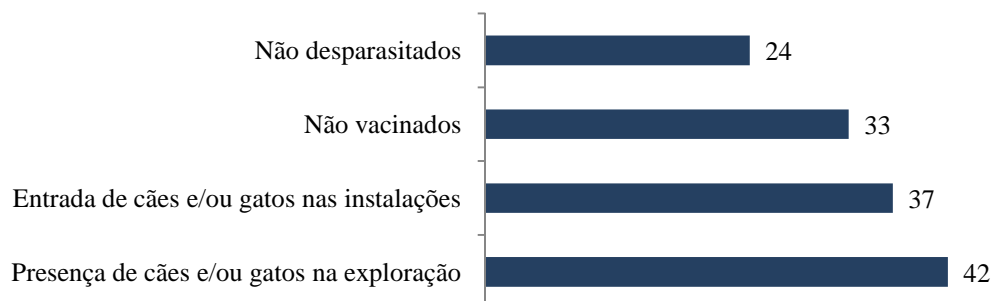


Gráfico 51. Explorações onde existem cães e/ou gatos, onde os cães e/ou gatos entram nas instalações, onde os cães e/ou gatos não estão vacinados nem desparasitados.

#### 4.3.4. Parasitofauna individual do porco Ibérico proveniente da análise de amostras biológicas, *postmortem*, recolhidas em matadouros

##### 4.3.4.1. Prevalência global

Na tabela 43 estão apresentados os resultados obtidos relativos à prevalência global dos parasitas encontrados nas amostras biológicas, *postmortem*, recolhidas em matadouro, provenientes de suínos de raça ibérica.

Tabela 43. Prevalência global da parasitofauna individual do porco Ibérico.

Parasita	Nº de indivíduos analisados	Técnica utilizada	Resultado
<i>Ascaris suum</i>	100	Flutuação e sedimentação	8 8,00 (3,3-13,9)
<i>Balantidium coli</i>	100	Flutuação e sedimentação	89 89,0 (81,1-94,1)
<i>Echinococcus granulosus</i>	100	Exame directo de pulmão	3 3,0 (0,8-8,4)
Família Eimeriidae	100	Flutuação e sedimentação	68 68,0 (57,0-75,6)
<i>Metastrongylus</i> spp.	100	Exame directo de pulmão	53 53,0 (42,9-62,6)
		Flutuação e sedimentação	25 25,0 (17,4-34,4)
<i>Sarcocystis</i> spp.	110	Digestão artificial trípica	100 90,91 (83,8-95,1)
Subordem Strongylida	100	Flutuação e sedimentação	8 8,0 (3,8-15,3)
<i>Toxoplasma gondii</i>	13	ELISA indirecta	3 25,9 (7,4-58,4)
		nested PCR	3 33,9 (9,7-76,4)
<i>Trichinella</i> spp.	140	Digestão artificial péptica	0 0,0 (0,0-0,0)
<i>Trichuris suis</i>	100	Flutuação e sedimentação	24 24,0 (16,4-33,4)

O resultado é apresentado em frequência absoluta seguido da prevalência (%) (intervalo de confiança de 95%).

#### 4.3.4.2. Seroprevalência e prevalência de *Toxoplasma gondii*

##### 4.3.4.2.1. Seroprevalência de *Toxoplasma gondii*: resultados de ELISA indirecta

Segundo a análise dos 13 soros, a seroprevalência aparente seria de 23,1%, contudo, segundo Calero Bernal *et al.*, (2011), a sensibilidade e especificidade associada à técnica utilizada é de 89,0% e 100%, respectivamente; assim, a seroprevalência real obtida da toxoplasmose nos suínos de raça ibérica na *Extremadura*, é de 25,9% (tabela 43). O número de animais, as densidades ópticas (D.O.) médias e a % de reactividade média em cada um dos parâmetros estão apresentados na tabela 44. Os quatro parâmetros de reactividade foram estabelecidos segundo o kit diagnóstico (tabela 32 do apartado 4.3.2.1.1.3).

Tabela 44. Resumo de reactividades e densidades médias segundo os parâmetros de positividade.

Parâmetros	Nº de animais	D.O. média	Reactividade média (%)
Seronegativos <40 %	8	0,36	29,22
Duvidosos ≥40 % e <50 %	2	0,51	43,42
Seropositivos ≥ 50 %	3	0,69	60,29

#### 4.3.4.2.2. Prevalência de *Toxoplasma gondii*: resultados do *nested*PCR

Segundo a análise dos linfonodos mesentéricos dos 13 indivíduos, a prevalência aparente seria de 23,1%, contudo, segundo Calero-Bernal *et al.* (2011), a sensibilidade e especificidade associada à técnica utilizada é de 68,5% e 100%, respectivamente; assim, a prevalência real obtida da toxoplasmose nos suínos de raça ibérica na *Extremadura*, é de 33,93% (tabela 43).

Na figura 33 está apresentado o resultado da PCR2 com os animais positivos identificados, sendo estes I86, I120 e I128.

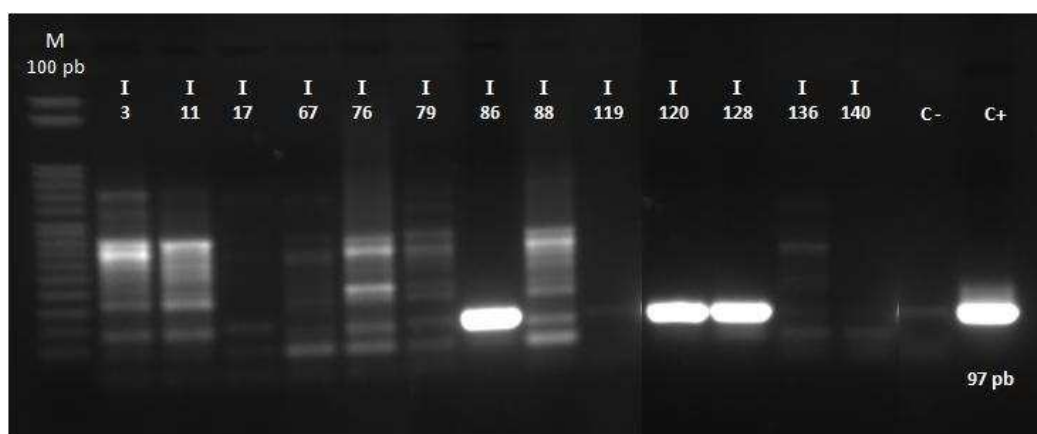


Figura 32. Resultado da PCR2 com identificação dos animais positivos a *T. gondii*.

Na tabela 45 estão apresentados os resultados obtidos na técnica de ELISA indirecta e no *nested*PCR.

Tabela 45. Resultados da pesquisa de *Toxoplasma gondii* obtidos pela técnica ELISA indirecta e *nested*PCR.

Identificação do animal	ELISA indirecta	<i>nested</i> PCR
CI3	<b>Seropositivo</b>	Negativo
CI11	Seronegativo	Negativo
CI17	Seronegativo	Negativo
CI67	Seronegativo	Negativo
CI76	Seronegativo	Negativo
CI79	Seronegativo	Negativo
CI86	<b>Seropositivo</b>	<b>Positivo</b>
CI88	<b>Seropositivo</b>	Negativo
CI119	Seronegativo	Negativo
CI120	Seronegativo	<b>Positivo</b>
CI128	<b>Duvidoso</b>	<b>Positivo</b>
CI136	<b>Duvidoso</b>	Negativo
CI140	Seronegativo	Negativo

#### 4.3.4.3. Intensidade de parasitismo

No gráfico 52 estão apresentados os resultados obtidos, mediante a técnica de McMaster, relativos à intensidade de parasitismo encontrados nas amostras de fezes, *postmortem*, recolhidas em matadouro, provenientes de 100 indivíduos. Os resultados são apresentados em OPG.

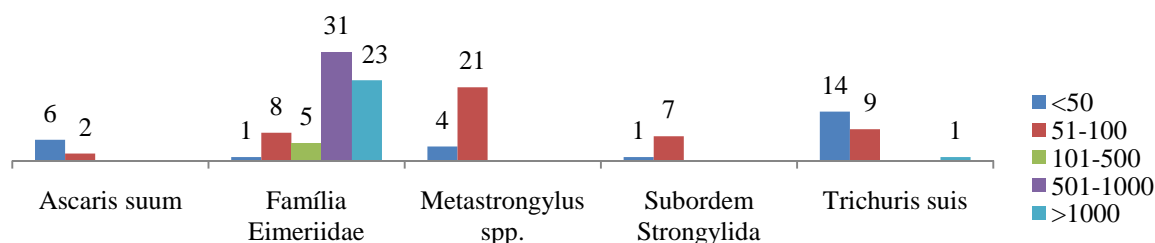


Gráfico 52. Intensidade de parasitismo de 100 suínos de raça ibérica abatidos em matadouro.

#### 4.3.4.4. Intensidade de parasitismo e espécies de *Metastrongylus* spp.

Tal como foi apresentado na tabela 43, através do exame directo de pulmão em 100 animais investigados, 53 foram positivos a *Metastrongylus* spp., obtendo-se assim uma prevalência global de 53%. O número total de nematodos adultos, *Metastrongylus* spp., recolhidos dos animais analisados foi de 1381. As cargas médias encontradas foram de 25 parasitas por indivíduo. O rácio fêmea/macho médio calculado para este género de parasita é de 2,23; ou seja, o género predominante de *Metastrongylus* spp. é o feminino.

Dos 1381 nematodos adultos recolhidos dos animais, conseguiram-se identificar 815, ficando assim sem identificar 41% (n=566) devido à fragilidade destes parasitas.

Tabela 46. Número de *Metastrongylus* spp. identificados de acordo com o sexo e espécie das formas adultas assinaladas.

Espécie	Sexo	Nº de adultos	
<i>M. apri</i>	Masculino	250	767
	Feminino	517	
<i>M. salmi</i>	Masculino	0	30
	Feminino	30	
<i>M. pudendotectus</i>	Masculino	7	18
	Feminino	11	
Total		815	

Tabela 47. Número de *Metastrongylus* spp. identificados de acordo com o sexo e espécie das formas adultas assinaladas no pulmão esquerdo.

Espécie	Sexo	Nº de adultos	
<i>M. apri</i>	Masculino	166	457
	Feminino	291	
<i>M. salmi</i>	Masculino	0	18
	Feminino	18	
<i>M. pudendotectus</i>	Masculino	5	30
	Feminino	25	
Total		505	

Tabela 48. Número de *Metastrongylus* spp. identificados de acordo com o sexo e espécie das formas adultas assinaladas no pulmão direito.

Espécie	Sexo	Nº de adultos	
<i>M. apri</i>	Masculino	99	289
	Feminino	190	
<i>M. salmi</i>	Masculino	0	11
	Feminino	11	
<i>M. pudendotectus</i>	Masculino	4	10
	Feminino	6	
Total		310	

No gráfico 53, confirma-se que a espécie predominante é *Metastrongylus apri*, presente em 94,34% dos animais positivos (n=50), seguido de *M. salmi* presente em 22,64% dos mesmos (n=12) e sendo a espécie menos frequente *M. pudendotectus* com 7,55% dos suínos positivos (n=4). No gráfico 54, observamos que a espécie *M. apri* está presente no pulmão esquerdo de 73,58% dos animais positivos (n=39) e presente no pulmão direito de 58,49% dos mesmos (n=31). O mesmo acontece para *M. pudendotectus*, estando presente no pulmão esquerdo de 7,55% animais (n=4) e presente no pulmão direito de 3,77% dos mesmos (n=2) (gráfico 55). Verifica-se o mesmo para *M. salmi*, com uma presença de 16,98% no pulmão esquerdo dos animais positivos (n=9) e de 15,09% no pulmão direito (n=8) (gráfico 46).



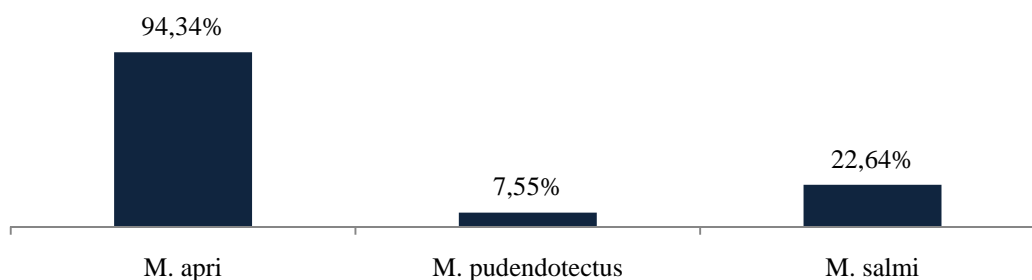


Gráfico 53. Percentagem de animais positivos a cada uma das espécies identificadas de *Metastrongylus* spp.



Gráfico 54. Percentagem de animais positivos a *Metastrongylus apri* nos pulmões esquerdo e direito.

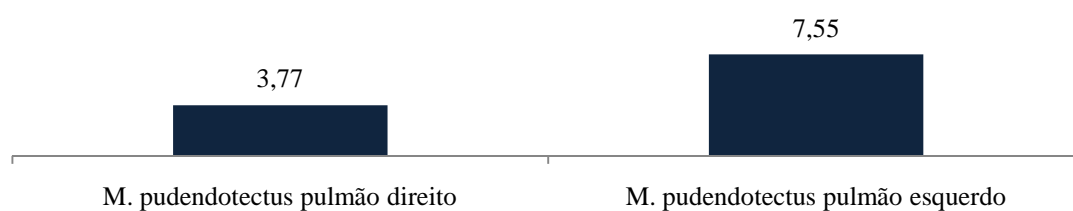


Gráfico 55. Percentagem de animais positivos a *Metastrongylus pudendotectus* nos pulmões esquerdo e direito.

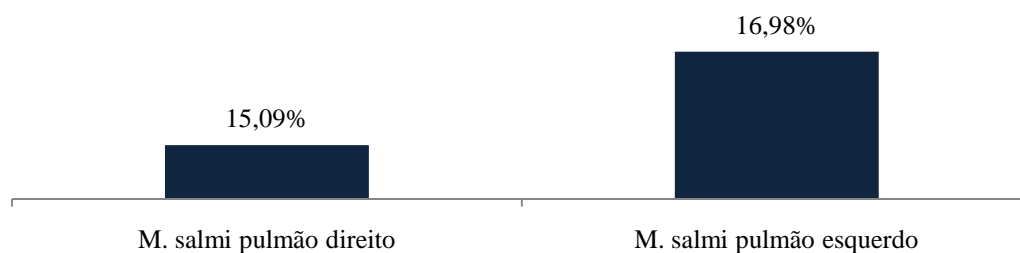


Gráfico 56. Percentagem de animais positivos a *Metastrongylus salmi* nos pulmões esquerdo e direito.

#### 4.3.4.5. Prevalência por sexo, idade, municípios, grau de pureza da raça e sistemas de produção

##### 4.3.4.5.1. Segundo o sexo

As prevalências obtidas de cada parasita para ambos os sexos encontram-se na tabela 49; apenas existe diferença significativa na prevalência entre sexos,  $P<0,05$ , no caso de *T. suis*.

Tabela 49. Prevalência de cada parasita em machos e fêmeas de suínos.

Parasita	Sexo		<i>Fisher's Exact Test</i>  Valor de <i>P</i>
	Feminino (n=49)	Masculino (n=51)	
	Prevalência (%)		
<i>Ascaris suum</i>	3,6	3,3	0,709
<i>Balantidium coli</i>	44,5	44,5	0,051
<i>Echinococcus granulosus</i>	1,5	1,5	0,618
Família Eimeriidae	34,9	32,1	1
<i>Metastrongylus</i> spp.	13,0	11,9	0,261
<i>Sarcocystis</i> spp.	33,2	28,8	0,287
Subordem Strongylida	4,2	3,8	1
<i>Trichuris suis</i>	12,5	11,5	<b>&lt;0,05</b>

##### 4.3.4.5.2. Segundo a idade

Na tabela 50 estão apresentadas as prevalências obtidas em animais de até 20 meses e de 4 anos de idade; existe diferença significativa na prevalência entre idades,  $P<0,05$ , no caso da Subordem Strongylida e de *T. suis*.

Tabela 50. Prevalência de cada parasita por idade.

Parasita	Idade		Fisher's Exact Test
	Até 20 meses (n=89)	4 anos (n=11)	Valor de P
	Prevalência (%)		
<i>Ascaris suum</i>	6,5	0,5	0,075
<i>Balantidium coli</i>	79,2	9,8	0,605
<i>Echinococcus granulosus</i>	2,8	0,2	1
Família Eimeriidae	62,4	4,6	0,053
<i>Metastrongylus</i> spp.	23,3	1,7	0,216
<i>Sarcocystis</i> spp.	90,0	10,0	1
Subordem Strongylida	7,5	0,6	<0,05
<i>Trichuris suis</i>	22,4	1,7	<0,05

##### 4.3.4.5.3. Segundo os municípios

Na tabela 51 estão apresentadas as prevalências obtidas em animais procedentes dos municípios de Brozas, Cáceres, Monroy, Salorino e Torrequemada (Província de Cáceres); existe diferença significativa na prevalência entre municípios,  $P<0,05$ , no caso da Família Eimeriidae, *Metastrongylus* spp., *Sarcocystis* spp., Subordem Strongylida e de *T. suis*.

Tabela 51. Prevalência de cada parasita por municípios.

Parasita	Municípios					Fisher's Exact Test
	Brozas (n=9)	Cáceres (n=51)	Monroy (n=3)	Salorino (n=29)	Torrequemada (n=8)	Valor de P
	Prevalência (%)					
<i>Ascaris suum</i>	1,4	3,1	0,1	2,0	0,3	0,079
<i>Balantidium coli</i>	8,0	45,4	2,7	25,8	7,1	0,152
<i>Echinococcus granulosus</i>	0,7	1,1	0,06	1,0	0,2	0,309
Família Eimeriidae	13,8	29,7	1,3	18,8	3,3	<0,05
<i>Metastrongylus</i> spp.	5,1	11,1	0,5	7,0	1,2	<0,05
<i>Sarcocystis</i> spp.	30,0	19,2	2,7	41,0	7,3	<0,05
Subordem Strongylida	1,7	3,6	0,2	2,3	0,4	<0,05
<i>Trichuris suis</i>	5,0	10,7	0,5	6,8	1,2	<0,05

#### 4.3.4.5.4. Segundo o grau de pureza da raça

Na tabela 52 estão apresentadas as prevalências obtidas em animais segundo o grau de pureza da raça; existe diferença significativa na prevalência entre grau de pureza da raça,  $P<0,05$ , no caso de *B. coli*, Família Eimeriidae, *Metastrongylus* spp., Subordem Strongylida e de *T. suis*.

Tabela 52. Prevalência de cada parasita segundo o grau de pureza da raça.

Parasita	Raça		Fisher's Exact Test
	75% Ibérico (n=70)	Ibérico puro (n=30)	Valor de P
	Prevalência (%)		
<i>Ascaris suum</i>	4,6	2,4	0,075
<i>Balantidium coli</i>	62,3	26,7	<0,05
<i>Echinococcus granulosus</i>	1,8	1,2	0,284
Família Eimeriidae	44,4	22,6	<0,05
<i>Metastrongylus</i> spp.	16,6	8,4	<0,05
<i>Sarcocystis</i> spp.	50,9	49,1	0,718
Subordem Strongylida	5,3	2,7	<0,05
<i>Trichuris suis</i>	15,9	8,1	<0,05

#### 4.3.4.5.5. Segundo os sistemas de produção

Na tabela 53 estão apresentadas as prevalências obtidas em animais segundo os sistemas de exploração; existe diferença significativa na prevalência entre sistemas de exploração,  $P<0,05$ , no caso da Subordem Strongylida e de *T. suis*.

Tabela 53. Prevalência de cada parasita segundo os sistemas de exploração.

Parasita	Sistema de exploração		Fisher's Exact Test
	Extensivo (n=89)	Semiextensivo (n=11)	
	Prevalência (%)		Valor de P
<i>Ascaris suum</i>	6,5	0,5	0,075
<i>Balantidium coli</i>	79,2	9,8	0,605
<i>Echinococcus granulosus</i>	2,8	0,2	1
Família Eimeriidae	62,4	4,6	0,053
<i>Metastrongylus</i> spp.	23,3	1,7	0,216
<i>Sarcocystis</i> spp.	90,0	10,0	1
Subordem Strongylida	7,5	0,5	<0,05
<i>Trichuris suis</i>	79,2	20,8	<0,05

#### 4.3.5. Parasitofauna dos javalis proveniente da análise de amostras biológicas, *postmortem*, recolhidas em montarias

Os resultados apresentados seguidamente são relativos à parasitofauna de javalis por idades (jovens, adultos e sem informação sobre a idade), *postmortem*, procedentes de amostras biológicas de fezes, pulmões e pilares de diafragma, recolhidas em montarias. É ainda de referir que todos os animais investigados segundo o método Oficial de digestão artificial péptica para diagnóstico de *Trichinella* spp. resultaram negativos. Nas tabelas 54, 55 e 56 estão apresentados, respectivamente, os resultados obtidos referentes à prevalência de cada parasita em javalis jovens, adultos e de javalis sem informação sobre a idade.

Tabela 54. Prevalência de cada parasita em javalis jovens.

Parasita	Nº de lotes analisados	Técnica utilizada	Resultado
<i>Ascaris suum</i>	23	Flutuação e sedimentação	0,43 (0,2-21,3)
<i>Balantidium coli</i>	23	Flutuação e sedimentação	78,3 (56,7-91,0)
Família Eimeriidae	23	Flutuação e sedimentação	26,1 (12,0-47,8)
<i>Metastrongylus</i> spp.	23	Flutuação e sedimentação	0,87 (0,2-27,8)
Subordem Strongylida	23	Flutuação e sedimentação	34,8 (17,8-56,7)
<i>Macracanthorhynchus hirudinaceus</i>	23	Flutuação e sedimentação	13 (0,4-32,3)
<i>Trichuris suis</i>	23	Flutuação e sedimentação	26,1 (12,0-47,8)

O resultado é apresentado em prevalência (%) (intervalo de confiança de 95%).

Tabela 55. Prevalência de cada parasita em javalis adultos.

Parasita	Nº de lotes analisados	Técnica utilizada	Resultado
<i>Ascaris suum</i>	41	Flutuação e sedimentação	12,2 (0,5-25,4)
<i>Balantidium coli</i>	41	Flutuação e sedimentação	85,4 (70,9-93,4)
Família Eimeriidae	41	Flutuação e sedimentação	1,5 (0,9-16,7)
<i>Metastrongylus</i> spp.	41	Flutuação e sedimentação	0,98 (0,3-22,9)
Subordem Strongylida	41	Flutuação e sedimentação	29,3 (16,7-45,1)
<i>Macracanthorhynchus hirudinaceus</i>	41	Flutuação e sedimentação	0,24 (0,1-12,9)
<i>Trichuris suis</i>	41	Flutuação e sedimentação	0,73 (0,2-19,3)

O resultado é apresentado em prevalência (%) (intervalo de confiança de 95%).

Tabela 56. Prevalência de cada parasita em javalis sem informação sobre a idade.

Parasita	Nº de lotes analisados	Técnica utilizada	Resultado
<i>Ascaris suum</i>	14	Flutuação e sedimentação	0 (0-23,8)
<i>Balantidium coli</i>	14	Flutuação e sedimentação	0 (0-23,8)
Família Eimeriidae	14	Flutuação e sedimentação	92,9 (68,3-99,6)
<i>Metastrongylus</i> spp.	14	Flutuação e sedimentação	0,7 (0,4-31,7)
Subordem Strongylida	14	Flutuação e sedimentação	0,7 (0,4-31,7)
<i>Macracanthorhynchus hirudinaceus</i>	14	Flutuação e sedimentação	0,7 (0,4-31,7)
<i>Trichuris suis</i>	14	Flutuação e sedimentação	0,7 (0,4-31,7)

O resultado é apresentado em prevalência (%) (intervalo de confiança de 95%).

#### 4.3.5.1. Prevalência, intensidade de parasitismo e espécies de *Metastrongylus* spp.

Através do exame directo de pulmão de 23 animais investigados, 15 foram positivos a *Metastrongylus* spp., obtendo-se assim uma prevalência global de 65,2%. O número total de nematodos adultos, *Metastrongylus* spp., recolhidos dos animais analisados foi de 1106. As cargas médias encontradas foram de 55 parasitas por indivíduo. O rácio fêmea/macho médio calculado para este género de parasita é de 1,5; ou seja, mais uma vez o sexo predominante de *Metastrongylus* spp. é o feminino. Dos 1106 nematodos adultos recolhidos dos animais, conseguiram-se identificar 489, ficando assim sem identificar 618 devido à fragilidade destes parasitas.

Tabela 57. Número de *Metastrongylus* spp. identificados em javalis de acordo com o sexo e espécie das formas adultas assinaladas.

Espécie	Sexo	Nº de adultos	
<i>M. apri</i>	Masculino	87	302
	Feminino	215	
<i>M. pudendotectus</i>	Masculino	39	168
	Feminino	129	
<i>M. salmi</i>	Masculino	0	19
	Feminino	19	
Total		489	

Tabela 58. Número de *Metastrongylus* spp. identificados em javalis de acordo com o sexo e espécie das formas adultas assinaladas no pulmão esquerdo.

Espécie	Sexo	Nº de adultos	
<i>M. apri</i>	Masculino	19	106
	Feminino	87	
<i>M. pudendotectus</i>	Masculino	17	80
	Feminino	73	
<i>M. salmi</i>	Masculino	0	7
	Feminino	7	
Total		193	

Tabela 59. Número de *Metastrongylus* spp. identificados em javalis de acordo com o sexo e espécie das formas adultas assinaladas no pulmão direito.

Espécie	Sexo	Nº de adultos	
<i>M. apri</i>	Masculino	68	196
	Feminino	128	
<i>M. pudendotectus</i>	Masculino	22	88
	Feminino	66	
<i>M. salmi</i>	Masculino	0	12
	Feminino	12	
Total		296	

No gráfico 57, confirma-se que a espécie predominante é *Metastrongylus apri*, presente em 100,0% dos animais positivos (n=15), seguido de *M. pudendotectus* presente em 80,0% dos mesmos (n=12) e sendo a espécie menos frequente *M. salmi* com 53,3% javalis positivos (n=8). No gráfico 58, observamos que a espécie *M. apri* está presente no pulmão esquerdo de 80,0% dos animais positivos (n=12) e presente no pulmão direito de 60,0% dos mesmos (n=9). O mesmo acontece para *M. pudendotectus*, estando presente no pulmão esquerdo de 60,0% animais (n=9) e presente no pulmão direito de 53,3% dos mesmos (n=8) (gráfico 59). Verifica-se o mesmo para *M. salmi*, com uma presença de 26,7% no pulmão esquerdo dos animais positivos (n=4) e de 33,3% no pulmão direito (n=5) (gráfico 50).

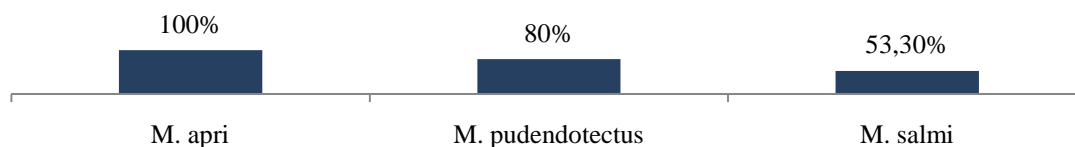


Gráfico 57. Percentagem de animais positivos a cada uma das espécies identificadas de *Metastrongylus* spp.



Gráfico 58. Percentagem de animais positivos a *Metastrongylus apri* nos pulmões esquerdo e direito.

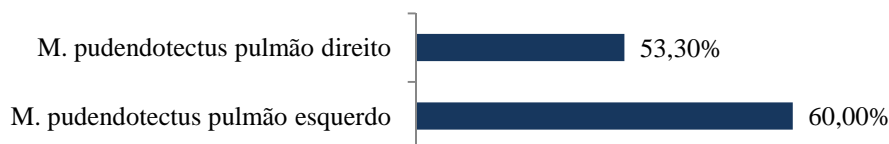


Gráfico 59. Percentagem de animais positivos a *Metastrongylus pudendotectus* nos pulmões esquerdo e direito.



Gráfico 60. Percentagem de animais positivos a *Metastrongylus salmi* nos pulmões esquerdo e direito.

#### 4.3.6. Análise dos factores de risco

Para a avaliação dos factores de risco foi calculada a razão de verosimilhança, *Odds ratio*, com um intervalo de confiança de 95%. Esta avaliação foi efectuada para a parasitofauna do porco Ibérico resultado da análise de fezes por lotes de produção, *antemortem*, recolhidas em explorações, associando posteriormente com os resultados obtidos nos inquéritos de exploração. Serão apenas apresentados os resultados em que o *Odds ratio* é  $>1$ , que significa que a taxa desse evento, neste caso a presença de um parasita, está aumentada em indivíduos que tenham sido expostos a um determinado factor de risco. Nas tabelas 60 a 65 estão apresentados os resultados obtidos relativamente aos factores de risco para a presença de cada parasita.

Tabela 60. Factores de risco para a presença de *Ascaris suum*.

<b>Variável/Factor de risco</b>	<b>OR (95% IC) <i>Ascaris suum</i></b>
Animais com tosse/pneumonia	2,2 (0,2-33,1)
Exploração com vedações de pedra	4,4 (0,3-243,6)
Exploração com vedações perfuradas	4,4 (0,3-68,2)
Exploração sem rodilúvio	3,4 (0,3-189,9)
Não rotação da pastagem	2,3 (0,1-143,4)
Não existência de vazios sanitários	2,9 (0,2-43,2)
Sistemas de encerramento inadequados nos pocilgas	3,5 (0,3-192,9)
Paredes e telhados sem isolamento térmico nos pocilgas	3,2 (0,2-177,7)
Colectores de drenagem sem encerramento seguro	4,6 (0,3-71,5)
Exploração sem plano de prevenção para roedores	2,5 (0,04-37,7)

Tabela 61. Factores de risco para a presença de *Balantidium coli*.

<b>Variável/Factor de risco</b>	<b>OR (95% IC) <i>Balantidium coli</i></b>
Avistamento de javalis na exploração	2,4 (0,2-36,3)
Exploração com vedações simples	38,5 (1,5-2856,3)
Pocilgas não adequados, limpos e secos	2,6 (0,2-38,9)
Entrada de cães e/ou gatos nas instalações de produção	10,4 (0,6-197,5)

Tabela 62. Factores de risco para a presença de *Metastrongylus* spp.

<b>Variável/Factor de risco</b>	<b>OR (95% IC) <i>Metastrongylus</i> spp.</b>
Animais com tosse/pneumonia	5,1 (1,2-24,8)
Exploração com vedações de pedra	6,9 (1,5-45,6)
Exploração sem quarentena	3,7 (0,4-55,0)
Não rotação da pastagem	2,8 (0,6-14,7)
Sistemas de encerramento inadequados nos pocilgas	5,2 (1,1-33,9)
Janelas sem redes mosquiteiras nos pocilgas	2,8 (0,5-13,8)
Paredes e telhados sem isolamento térmico nos pocilgas	4,6 (0,9-30,5)
Solo do estábulo com inclinação inadequada	2,6 (0,6-11,6)
Colectores de drenagem sem encerramento seguro	6,2 (1,2-34,5)
Presença de cães e/ou gatos na exploração	5,1 (0,6-238,8)
Exploração sem plano de controlo de insectos	3,4 (0,04-280,4)
Exploração sem plano de prevenção para roedores	5,7 (0,8-45,9)



Tabela 63. Factores de risco para a presença da Família Eimeriidae.

<b>Variável/Factor de risco</b>	<b>OR (95% IC) Família Eimeriidae</b>
Exploração com vedações de pedra	4,3 (1,1-18,5)
Má drenagem dos terrenos	5,6 (1,2-37,0)
Pocilgas não adequados, limpos e secos	4,8 (1,2-21,8)
Sistemas de encerramento inadequados nos pocilgas	3,6 (1,0-14,2)
Paredes e telhados sem isolamento térmico nos pocilgas	6,1 (1,6-25,8)
Material do solo do estábulo não é SLAT	2,5 (0,6-11,1)
Solo do estábulo com inclinação inadequada	3,3 (0,9-14,5)
Colectores de drenagem sem encerramento seguro	4,2 (4,2-44,3)
Presença de cães e/ou gatos na exploração	3,2 (0,8-14,4)
Entrada de cães e/ou gatos nas instalações de produção	3,0 (0,3-40,9)
Exploração sem plano de limpeza e desinfecção	2,0 (0,3-23,1)

Tabela 64. Factores de risco para a presença da Subordem Strongylida.

<b>Variável/Factor de risco</b>	<b>OR (95% IC) Subordem Strongylida</b>
Presença de refúgios	6,3 (1,3-42,8)
Exploração sem quarentena	3,2 (0,3-183,3)
Pastoreio em áreas com cursos de água ou encharcadas	2,1 (0,6-7,5)
Janelas sem redes mosquiteiras nos pocilgas	2,2 (0,5-14,4)
Material do solo do estábulo não é SLAT	2,5 (0,6-11,1)
Solo do estábulo com inclinação inadequada	3,3 (0,9-14,5)
Colectores de drenagem sem encerramento seguro	7,8 (0,9-363,5)
Exploração sem plano de prevenção para roedores	4,1 (0,5-199,5)

Tabela 65. Factores de risco para a presença de *Trichuris suis*.

<b>Variável/Factor de risco</b>	<b>OR (95% IC) <i>Trichuris suis</i></b>
Avistamento de javalis na exploração	4,5 (0,5-194,3)
Animais com tosse/pneumonia	10,9 (1,7-121,93)
Exploração com vedações de pedra	3,2 (0,6-22,5)
Exploração com vedações perfuradas	2,3 (0,3-13,8)
Não rotação da pastagem	10,1 (1,1-488,9)
Sistemas de encerramento inadequados nos pocilgas	4,7 (0,8-51,7)
Material do solo do estábulo não é SLAT	5,6 (0,9-40,6)
Janelas sem redes mosquiteiras nos pocilgas	2,2 (0,5-14,4)
Colectores de drenagem sem encerramento seguro	2,4 (0,3-14,5)
Presença de cães e/ou gatos na exploração	3,0 (0,3-145,9)
Exploração sem plano de limpeza e desinfecção	2,4 (0,2-18,5)
Exploração sem plano de prevenção para roedores	5,1 (0,6-39,9)

## 4.4. Discussão

Antes de iniciarmos este capítulo, queremos ressaltar que são poucas as investigações realizadas sobre a parasitofauna do porco Ibérico em Espanha e no resto do mundo o que dificultou, de certo modo, a elaboração desta discussão. Deste modo, os nossos resultados obtidos da parasitofauna do porco Ibérico resultado da análise de fezes, *antemortem*, recolhidas em explorações por lotes de produção, foram essencialmente comparados com os resultados obtidos por Gião-Gomes (2009) que estudou 24 explorações em sistema extensivo de produção de porco de raça Alentejana no distrito de Évora. Esta autora, no seu trabalho também realizou a análise por grupos de produção (reprodutores, recria e engorda) o que torna os resultados bastante comparáveis visto tratar-se de uma raça de suínos semelhante e de regiões com características edafoclimáticas bastante idênticas. Por outro lado, os nossos resultados obtidos da parasitofauna do porco Ibérico resultantes da análise de amostras biológicas recolhidas, *postmortem*, em matadouro, foram essencialmente comparados com os resultados obtidos por García-Vallejo (1999) que estudou 689 suínos de raça Ibérica em regime de montanha na *Extremadura* (Espanha). Este autor, no seu trabalho também realizou a análise individual o que torna os resultados comparáveis para além de se tratar da mesma raça e da mesma região geográfica. Por último, relativamente aos resultados obtidos da parasitofauna dos javalis proveniente de amostras biológicas, *postmortem*, recolhidas em montarias, foram comparados com os resultados obtidos anteriormente por Calero-Bernal *et al.* (2008) e por García-González (2010). Os trabalhos destes autores fazem parte de uma linha de investigação existente no departamento de Parasitologia da FVC-UEX e, portanto, os nossos resultados podem ser comparados com os já existentes no seguimento da mesma linha de investigação. No entanto, sempre que consideramos oportuno utilizaremos resultados de outros autores nesta discussão.

### 4.4.1. Parasitofauna do porco Ibérico resultado da análise de fezes, *antemortem*, recolhidas em explorações

#### 4.4.1.1. Prevalência global

A prevalência de cada um dos parasitas estudados nas 55 explorações revelou que a infecção por *B. coli*, Subordem Strongylida e Família Eimeriidae são as que tomam maiores valores. Prevalências mais baixas foram encontradas para *Metastrongylus* spp. seguido de *T. suis* e, por último, *A. suum* (tabela 32). Estes dados têm uma certa explicação lógica e biológica, uma vez que estas explorações suínas apresentam deficientes condições higiénicas, que unido à relação tão estreita entre o porco Ibérico com o meio ambiente, o qual possibilita o acesso destes animais a todo o tipo de possíveis hospedeiros intermediários facilitando em grande medida a transmissão dos parasitas encontrados, tanto de ciclo biológico directo como indirecto (García Vallejo, 1999; Gião Gomes, 2009). Para além disso, vários estudos indicam-nos que é comum

encontrar entre cinco a 10 espécies de parasitas em explorações com sistemas de exploração semi-extensivos e extensivos (Nissen *et al.*, 2011 citado por Roepstorff *et al.*, 2011).

Gião-Gomes (2009) estudou 24 explorações em sistema extensivo de produção de porco de raça Alentejana, identificando *Oesophagostomum* spp./*Hyoststrongylus rubidus* em 79% das explorações. Gerwert *et al.* (2004) registaram prevalências de 79% para *Oesophagostomum* spp. em 144 explorações analisadas na Alemanha (Münsterland). Haugegaard (2010) analisou 79 explorações na Dinamarca com sistema de exploração extensivo e obteve uma prevalência de 15% para *Oesophagostomum* spp., valor inferior ao obtido no nosso trabalho, no entanto, para este autor o resultado obtido no seu estudo é suficiente para ser considerado uma ameaça à produtividade suína nestas condições. No nosso trabalho obtivemos uma prevalência de 65,5% para a Subordem Strongylida e 83,3% para *Oesophagostomum* spp., valores semelhantes aos registados pelos referidos autores. Atendendo à elevada prevalência de parasitas com ovos do tipo strongilídeo (79%), assinalada por esta autora, e tendo em conta que das seis explorações onde efectuámos coprocultura e isolamento de larvas de nematodos pelo método de Baermann, cinco delas foram positivas a *Oesophagostomum* spp. e que em nenhuma delas identificámos a presença de L3 da espécie *Hyoststrongylus rubidus*, supomos que para as restantes explorações positivas à Subordem Strongylida (n=36) (tabela 32) possivelmente estaríamos perante infecção por *Oesophagostomum* spp. As L4 de *Oesophagostomum* spp. e de *H. rubidus* podem desenvolver uma hipobiose, no entanto, as L3 de *Oesophagostomum* spp. resistem melhor a baixas temperaturas (vários dias a temperaturas de -19 a -20°C) pelo que muitas sobrevivem ao Inverno, no entanto, a exigência de temperaturas superiores a 10°C e de humidades superiores a 75% para o desenvolvimento e evolução do ciclo no meio ambiente, faz com que também haja uma tendência para a sazonalidade. (Frontera Carrión *et al.*, 2009d e 2009i). Este aspecto é importante tendo em conta que o período de amostragem deste estudo foi feito maioritariamente no Inverno e início de Primavera, entre Novembro de 2011 e Abril 2012, com características ambientais propícias à sobrevivência e manutenção do ciclo biológico de *Oesophagostomum* spp.

Em relação a *B. coli*, das 55 explorações estudadas, 52 delas (94,5%) são positivas a este protozoário. Gião-Gomes (2009) no seu estudo registou uma prevalência global de 67% em 24 explorações extensivas de suínos alentejanos na região de Évora. Normalmente, é um parasita que se comporta como um comensal apatogénico nos suínos e no Homem. Por outro lado, é um invasor secundário e oportunista, que actua quando existem factores concomitantes, tais como o stress, a fome, a presença de outros parasitas como os da Família Eimeriidae, *Oesophagostomum* spp., *T. suis*, etc. (Frontera Carrión *et al.*, 2009b; Schuster & Ramirez-Avila, 2008), provocando diminuição do ganho médio diário (GMD) e aumento da mortalidade (Bilic & Bilkei, 2006). Este aspecto é importante e relevante uma vez que os animais analisados estavam parasitados por estes agentes patogénicos.

Relativamente à Família Eimeriidae, das 55 explorações estudadas, 31 delas (56,4%) são positivas a estes protozoários. Gião-Gomes (2009) registou prevalências de 79% para *Eimeria* spp. e 58% para *C. suis* nas 24 explorações de porco alentejano estudadas, sendo estes valores não muito diferentes aos registados no nosso trabalho. Damriyasa & Bauer (2006) registaram prevalências de 45% para *C. suis* e de 30% para *Eimeria* spp. em 20 explorações analisadas na Alemanha, sendo que, mais uma vez estes resultados não são muito dispares aos obtidos no nosso trabalho. Gerwert *et al.* (2004) registaram prevalências de 29% para *Eimeria* spp. em 144 explorações analisadas na Alemanha (Münsterland), sendo esta prevalência inferior à obtida no nosso trabalho talvez porque as condições higiénicas das explorações analisadas pudessem ser melhores comparativamente às explorações estudadas no nosso trabalho. Cordero del Campillo *et al.* (2002b) afirma que o parasitismo por *Eimeria* spp. está muito difundido por todo o mundo e os oocistos apresentam uma elevada resistência nas explorações. Sabe-se ainda que *Eimeria* spp. está amplamente difundida na Península Ibérica (García Vallejo, 1999). O mesmo ocorre com *C. suis* cuja distribuição é também cosmopolita, tendo sido já detectada em leitões por todo o mundo (Karamon *et al.*, 2007).

Quanto a *Metastrongylus* spp., das 55 explorações estudadas, 13 delas (23,6%) são positivas a este nemátode. Gião-Gomes (2009) no seu trabalho registou prevalências de 29%, valor relativamente próximo ao registado no nosso trabalho. Trata-se, eminentemente, de uma parasitose própria de suínos explorados em regime extensivo ou semiextensivo (Frontera Carrión *et al.*, 2009h). A existência de um grande número de explorações extensivas na *Extremadura* (Espanha) e o íntimo contacto dos suínos domésticos com os ecossistemas silvestres onde existem javalis, proporciona a sua manutenção com taxas de infecção mais elevadas (Alonso, 2005). Para além disso, estudos realizados em javalis na nesta mesma região revelaram que a frequência de infecção desta espécie por este nematode pulmonar é frequente (García-González, 2010).

Relativamente a *A. suum*, das 55 explorações estudadas, 7 delas (12,7%) são positivas a este nematode. Gião-Gomes (2009) no seu trabalho registou prevalências de 25%, valor superior ao registado na presente investigação talvez devido ao facto do estudo elaborado pela autora ter sido realizado desde Março de 2008 até Fevereiro de 2009. Considera-se que existe uma elevada resistência do porco Ibérico face à infecção por este parasita (García Vallejo, 1999) o que poderá justificar os resultados obtidos no nosso trabalho. Haugegaard (2010) analisou 79 explorações na Dinamarca em sistema extensivo de produção e obteve uma prevalência de 76% para *A. suum*. Este autor considera que o resultado obtido no seu estudo é suficiente para considerar este parasita como uma ameaça à produtividade suína nestas condições.

Quanto a *T. suis*, das 55 explorações estudadas, 10 delas (18,2%) são positivas a este parasita. Gião-Gomes (2009) no seu trabalho registou prevalências de 17%, valor semelhante ao registado no nosso trabalho. Sabe-se que é uma parasitose relativamente frequente em suínos

domésticos e silvestres na Península Ibérica (Cordero del Campillo & Argüello, 2002e). Sabe-se ainda que a sua prevalência em regime extensivo em Espanha se situa entre os 11% e os 16% e que este parasita está cada vez mais associado a sistemas de produção extensiva (Navarrete *et al.*, 2005). Por outro lado, Haugegaard (2010) analisou 79 explorações na Dinamarca e refere que este parasita foi registado em poucas explorações não considerando relevante a presença deste agente em sistemas extensivos de produção.

#### **4.4.1.2. Prevalência em lotes de produção**

A prevalência de ovos do tipo strongilídeo obtida no nosso estudo é mais alta nos lotes de engorda (68,7%), recria (66,7%), reprodutores (64,7%) e montanha (51,5%). Os resultados da coprocultura e isolamento de larvas pelo método de Baermann realizados para estes lotes revelaram, em todos eles, a presença de L3 de *Oesophagostomum* spp., tal como pode ser constatado nas tabelas 33, 34, 35 e 37. Estes resultados estão de acordo com os observados por Gião-Gomes (2009) no seu estudo sobre parasitas de suínos de raça Alentejana, onde esta autora também encontrou prevalências mais elevadas de ovos de tipo strongilídeo no grupo dos reprodutores, recria e engorda. Outros registos bibliográficos revelam que a infecção por *Oesophagostomum* spp. pode ocorrer tanto em lotes de recria e engorda, como também em lotes de reprodutores (Frontera Carrión *et al.*, 2009d). A prevalência de ovos tipo strongilídeo nos lotes de cria (11,1%) poderá eventualmente ser causada por *Oesophagostomum* spp. mas também não podemos excluir *H. rubidus*, facto que consideramos pouco provável devido à sua capacidade de desenvolver hipobiose sazonal. No entanto, como não efectuámos coproculturas neste caso não podemos afirmar qual dos parasitas se trata. Para além disso, a alta prevalência de *Oesophagostomum* spp. também pode ser devida à sua baixa imunogenicidade e, portanto, pode ser encontrada em todos os lotes de produção tal como se verificou no nosso trabalho (Nansen & Roepstorff, 1999 citado por Roepstorff *et al.*, 2011).

A prevalência de *B. coli* obtida no nosso trabalho é mais elevada em animais mais velhos, aumentando de 66,7% nos lotes de cria para 91,7% na recria e 100% nos lotes de engorda e reprodutores. Um estudo de prevalência e intensidade sobre este protozoário efectuado na Dinamarca por Hindsbo *et al.* (2000) revelou resultados semelhantes aos nossos, onde a prevalência aumentou de 57% em leitões para 100% em suínos com idade superior a 4 semanas. Os nossos resultados são de um modo geral superiores aos encontrados por Gião-Gomes (2009), que no seu estudo registou prevalências de 28,6% nos reprodutores, 15% no lote de engorda e 55,6% na recria. A justificação poderá dever-se à sensibilidade das técnicas de sedimentação utilizadas, uma vez que as soluções saturadas utilizadas e o tempo de sedimentação são diferentes. Este aspecto poderá ser considerado em estudos posteriores na tentativa de confirmar esta hipótese. No entanto, também não podemos descartar outros factores de risco, comentados

posteriormente nesta discussão, que possam influenciar e justificar as prevalências mais elevadas obtidas no nosso trabalho.

A prevalência da Família Eimeriidae obtida no nosso estudo revelou ser mais elevada nos lotes de reprodutores (88,2%), recria (83,3%), cria (77,8%) e engorda (68,7%). A doença produz-se tipicamente em animais jovens mas o parasitismo é frequente em adultos, com cargas parasitárias muito baixas que permitem o desenvolvimento de uma imunidade que mantém o equilíbrio com o parasita. Assim, os adultos convertem-se em portadores e disseminadores do agente, o que explica a sua alta frequência. A partir do momento em que os animais começam a eliminar o agente, a descarga de oocistos faz-se de forma bastante contínua (Frontera Carrión *et al.*, 2009c) sendo este aspecto importante dadas as altas prevalências encontradas em todos os lotes analisados reflectindo a infecção contínua dos animais. As prevalências por lotes obtidas na presente investigação para a Família Eimeriidae são mais uma vez superiores às registadas por Gião-Gomes (2009) que no seu estudo obteve 53% de prevalência nos reprodutores, 60% no grupo de engorda e 77% na recria. Apesar de estas coccídeas estarem bastante difundidas nas explorações que estudámos (56,4% (n=31 explorações)), os valores mais baixos de prevalência nos lotes de montanha (42,4%) poderão dever-se principalmente ao carácter extensivo destas explorações e ao ciclo evolutivo directo ou monóxeno dos parasitas pertencentes à Família Eimeriidae, uma vez que estas condições fazem com que a transmissão e a infecção sejam reduzidas (García Vallejo, 1999; Calero Bernal *et al.*, 2008).

A prevalência de *Metastrongylus* spp. obtida no nosso estudo por lotes de produção revelou ser mais elevada na recria (41,7%) e nos reprodutores (35,3%). Menores prevalências foram obtidas nos lotes de engorda (18,7%) e montanha (18,2%). Segundo alguns autores, a eliminação dos ovos aumenta com a idade dos animais, alcançando o máximo entre a 5<sup>a</sup>-9<sup>a</sup> semana pós-infecção, diminuindo posteriormente (Hidalgo Argüello, Cordero del Campillo & Díez Baños, 1999). Para outros autores, a idade mais propícia para a infecção é quando os animais começam a fossar, quando necessitam ingerir proteínas animais, entre as duas e as oito semanas de idade. A prevalência nos lotes de recria de 41,7% talvez se deva ao facto de os hábitos de fossar serem mais marcados nesta fase devido às necessidades do aminoácido lisina que se encontra em alto teor nas minhocas e também pela não colocação de arganel nos animais, o que permite com maior facilidade a ingestão de minhocas infectadas (García-González, 2010). A busca constante de proteínas necessárias durante a fase de crescimento poderia ser a responsável pela maior resistência dos animais a partir dessa idade (García-González, 2010), o que se verifica também nas prevalências obtidas no nosso trabalho para animais mais velhos com 18,2% nos lotes de montanha, 18,7% na engorda e 35,5% nos reprodutores. Os nossos resultados de prevalência por lotes são superiores aos encontrados por Gião-Gomes (2009) que no seu estudo obteve um 16,7% na recria, 7% na engorda e 0% nos reprodutores. São vários os factores epidemiológicos que influenciam a presença de *Metastrongylus* spp., no entanto, atribuímos mais facilmente esta



discrepância de prevalências entre o nosso estudo e o de Gião-Gomes (2009), a factores intrínsecos do hospedeiro intermediário uma vez que os outros factores são relativamente constantes. Assim, podemos pensar que no distrito de Évora os terrenos talvez não apresentem características propícias à existência dos hospedeiros intermediários, nomeadamente, a riqueza em húmus e a humidade (García González, 2010), características estas favoráveis à presença de minhocas e para que se produza o contágio. No entanto, também não podemos descartar outros factores tais como a nutrição, pois não controlámos este aspecto, e também a época do ano, uma vez que o estudo da autora citada foi realizado de Março de 2008 a Fevereiro de 2009, abrangendo, portanto, várias épocas do ano, enquanto o nosso trabalho realizado entre Novembro de 2011 a Abril de 2012, sendo este período à partida mais propício à óptima actividade das minhocas com temperaturas mais próximas a 10°C (MacDonald, 1980 citado por García González, 2010) e ainda tendo em conta que estes anelídeos são mais abundantes na superfície da terra no Verão e Outono, altura esta que corresponde ao pico de consumo de minhocas por parte dos javalis (Baubet *et al.*, 2003 citado por García González, 2010) e provavelmente pelos suínos domésticos e, portanto, este aspecto aumentaria a possibilidade de contágio.

A prevalência de *A. suum* obtida no nosso estudo por lotes de produção revelou ser mais elevada no lote de montanheira (12,1%) e nos reprodutores (11,8%), sendo no lote de engorda de 0,63%. Foi comprovada uma resistência adquirida ao *A. suum* nos suínos de raça ibérica (García Vallejo, 1999). Os nossos resultados de prevalência por lotes são diferentes dos registados por Gião-Gomes (2009), que no seu estudo obteve um 5% no lote de engorda e 22% na recria, obtendo ainda 0% de prevalência nos reprodutores. A protecção dos animais pode ser total em adultos que vivam em ambientes contaminados, originando uma barreira pré-hepática à migração larvar (Frontera Carrión *et al.*, 2005). Estes aspectos podem justificar as prevalências médias-baixas de *A. suum* por lotes de produção registadas no nosso trabalho. Frontera Carrión *et al* (2009a) referem que a Ascariose é sem dúvida, a helmintose mais frequente e importante na cria e recria de suínos, pela sua grande incidência em praticamente todo o mundo. Obtivemos resultados negativos para os lotes de cria e recria. No entanto, sabemos que existe a possibilidade de estarmos perante falsos negativos (Roepstorff & Nansen, 1998). Se, por exemplo, um suíno fosse recentemente transferido de um ambiente limpo para uma área contaminada, poderia abrigar uma alta carga parasitária de formas imaturas que não produziriam ovos e o exame fecal seria falso negativo. Para além disso, a possibilidade de resultados falsos negativos aumenta com a duração do período pré-patente (*A. suum* é 7-8 semanas). Quando a taxa de transmissão é elevada, os suínos respondem imunologicamente aos parasitas, podendo ocorrer uma diminuição na saída de ovos, o que é particularmente comum quando as espécies de helmintes são fortemente imunogénicas como é o caso de *A. suum* (Roepstorff & Nansen, 1998). Os resultados falsos negativos podem também ser obtidos quando os parasitas adultos

são na sua totalidade machos ou fêmeas e ainda se o teste utilizado não for eficaz (Roepstorff & Nansen, 1998).

A prevalência de *T. suis* obtida no nosso estudo revelou ser mais elevada nos lotes de reprodutores (41,2%), cria (22,2%) e recria (16,7%). Menores prevalências foram obtidas para os lotes de recria (16,7%), engorda (12,5%) e montanheira (12,1%). Os nossos resultados de prevalência por lotes são semelhantes aos registados por Gião-Gomes (2009) que no seu estudo obteve, unicamente, uma prevalência de 22% no lote de recria. Alcaide *et al.* (2005) referem que apesar de afectar animais de todas as idades, estes nemátodes são mais frequentes em animais com idade inferior a 6 meses. Frontera Carrión *et al.* (2009o) referem que as porcas e os varrascos apresentam baixos índices de infecção, provavelmente devido à forte protecção imunitária que desenvolvem nas anteriores infecções. Embora as prevalências obtidas no nosso trabalho sejam mais elevadas nos lotes de reprodutores, existe a possibilidade de ocorrência de resultados falsos positivos que podem ocorrer quando os ovos de helmintes não embrionados são ingeridos por um suíno não infectado e depois são eliminados com as fezes. Para que esta passagem possa ocorrer, os ovos devem permanecer sem embrionar no meio ambiente e durante a passagem intestinal, e o hospedeiro deve ingerir as fezes (Roepstorff & Nansen, 1998).

#### **4.4.1.3. Prevalência em sistemas de produção**

A prevalência de ovos do tipo strongilídeo obtida no nosso estudo é mais elevada no sistema intensivo (71,4%), seguido do extensivo (60,4%) e, por último, do semiextensivo (55,6%). Os resultados da coprocultura e isolamento de larvas pelo método de Baermann realizados para estes sistemas revelaram, em todos eles, a presença de L3 de *Oesophagostomum* spp., tal como pode ser constatado nas tabelas 38, 39 e 40. *Oesophagostomum* spp., adquire altos índices de prevalência, sendo escassas as explorações suínas, tanto de regime extensivo como intensivo, que não tenham sido afectadas em algum momento por este parasita (Frontera Carrión *et al.*, 2009d). Para além disso, existem evidências de que a prevalência de *Oesophagostomum* spp. tem aumentado em sistemas extensivos (Haugegaard, 2010 citado por Roepstorff *et al.*, 2011). As prevalências são mais elevadas nos sistemas intensivos, provavelmente devido à maior densidade de animais que existe nestes sistemas, e uma vez que se trata de um parasita com um ciclo biológico directo, seria mais fácil o contágio pois os adultos existentes eliminam milhares de ovos por grama de fezes, sendo particularmente perigosos os lugares sombrios e húmidos, perto dos comedouros e bebedouros com falta de higiene e as zonas onde haja fezes frequentemente (Frontera Carrión *et al.*, 2009d).

As prevalências de *B. coli* obtidas no nosso estudo são mais elevadas no sistema extensivo (93,8%), seguido do semiextensivo (92,9%) e, por último, do intensivo (88,9%). Em todos os sistemas as prevalências são bastante elevadas. Bilic & Bilkei (2006) referem que este protozoário é frequente em sistemas extensivos de produção na Croácia. Sabemos que é um



parasita com ampla distribuição mundial, de carácter zoonótico e que as investigações têm sido escassas, no entanto, recentemente foi considerado um protozoário patogénico emergente (Garcia, 2008) e, portanto, estes resultados devem ser tidos em consideração, devendo os produtores melhorar o plano de controlo e prevenção, que deverá incluir medidas de biossegurança, e entre elas as higiosanitárias (Tatfeng *et al.*, 2005; Schuster & Ramirez-Avila, 2008).

As prevalências de parasitas da Família Eimeriidae obtidas no nosso estudo são mais elevadas no sistema semiextensivo (85,7%), seguido do intensivo (77,8%) e, por último, do extensivo (50,0%). No passado, as coccidioses eram doenças pouco frequentes, praticamente inexistentes em animais de vida livre ou explorações extensivas. Hoje em dia esta doença está amplamente distribuída por qualquer latitude, devido à criação intensiva dos animais, ao elevado potencial biótico destes agentes e, sobretudo, à falta de medidas higiénicas adequadas nas explorações e que vão favorecer a proliferação destes protozoários (Frontera Carrión *et al.*, 2009c). Os animais podem infectar-se por ingestão de alimentos ou água contaminada por fezes de outros animais clinicamente afectados ou portadores, ou ainda directamente por coprofagia (Frontera Carrión *et al.*, 2009c) o que pode justificar as elevadas prevalências registadas nos sistemas estudados. Para além disso, Gerwert *et al.*, (2004) referem o pastoreio como um factor de risco para a infecção por *Eimeria* spp., sendo este um factor que também poderia justificar os resultados obtidos para o sistema extensivo no nosso trabalho.

As prevalências de *Metastrongylus* spp. obtidas no nosso estudo são mais elevadas no sistema intensivo (44,4%), seguido do semiextensivo (28,6%) e, por último, do extensivo (22,9%).

À partida, estes resultados contrariam o previsto uma vez que se trata, eminentemente, de uma infecção de sistemas extensivos e semiextensivos. No entanto, se nos sistemas intensivos os solos das pocilgas forem de terra e na presença de minhocas infectadas, poderão ocorrer as mudas das larvas, de L1 a L3, nessas minhocas, contudo, na bibliografia consultada não obtivemos referências que possam suportar a nossa teoria. No entanto, não podemos descartar outros factores, que serão posteriormente comentados nesta discussão, que podem estar relacionados e de certo modo justificar os resultados obtidos nos diferentes sistemas de exploração para esta parasitose.

As prevalências de *A. suum* obtidas no nosso estudo são mais elevadas no sistema semiextensivo (14,3%), seguido do intensivo (11,1%) e, por último, do extensivo (10,4%).

As prevalências são mais elevadas nos sistemas mais intensivos, provavelmente devido à maior densidade de animais existente, e uma vez que se trata de um parasita com um ciclo biológico directo, seria mais fácil o contágio (Roepstorff *et al.*, 2011). Por outro lado, a longevidade dos ovos de *A. suum* é um grande desafio para a produção de suínos ao ar livre e mesmo um bom programa de rotação de pastagem pode não ser benéfico (Roepstorff *et al.*, 2011), o que justifica

as prevalências encontradas no sistema extensivo, pois provavelmente os suínos tanto se infectam na pastagem como nas pocilgas.

As prevalências de *T. suis* obtidas no nosso estudo são mais elevadas no sistema intensivo (22,2%), seguido do semiextensivo (14,3%) e, por último, do extensivo (18,8%). As prevalências são mais elevadas nos sistemas intensivos, provavelmente devido à maior densidade de animais que existem nestes sistemas, e uma vez que se trata de um parasita com um ciclo biológico directo, seria mais fácil o contágio. Por outro lado, esta parasitose é cada vez mais associada a sistemas de produção ao ar livre em parques de terra e alimentação em montanha, pelo que se observarmos os nossos dados não existe uma diferença acentuada entre as prevalências no sistema intensivo e extensivo (Navarrete *et al.*, 2005; Frontera Carrión *et al.*, 2009; Roepstorff *et al.*, 2011).

#### **4.4.2. Inquéritos de exploração**

Os produtores/gestores inquiridos apresentavam uma idade média de 52 anos, a maioria (66,1%) tinha um baixo nível de escolaridade (estudos primários) e a média de anos dedicados à produção/criação de suínos de raça Ibérica foi de 23 anos. Estamos perante pessoas que dedicaram grande parte da sua vida à produção de suínos da raça Ibérica e portanto com bastante experiência prática, ainda que com baixa formação académica. Gião-Gomes (2009) obteve resultados semelhantes nos inquéritos de exploração que realizou, sendo que a grande maioria dos produtores de porco Alentejano do distrito de Évora apresentavam idade superior a 46 anos, com um baixo nível de escolaridade.

Os lotes de fezes analisados neste trabalho são originários de 55 explorações pecuárias de porco Ibérico, pertencentes às Comunidades Autónomas da *Extremadura* e *Castilla y León* (Espanha), em que 62,07% deles eram oriundos da província de Badajoz, 27,59% de Cáceres e 10,34% de Salamanca. Para Benito *et al.* (1997) dentro da distribuição de porco Ibérico em Espanha, por província, existem zonas principalmente produtoras e outras dedicadas fundamentalmente à transformação e elaboração, tanto de produtos frescos como curados. A maior parte da produção de gado coincide com as áreas de elevada densidade de azinheiras e sobreiros. Assim, na região da *Extremadura*, onde se incluem as províncias de Badajoz e Cáceres, situa-se 50% do total da produção. Acreditamos, por isso, que a nossa amostra é bastante representativa em termos de distribuição das explorações pecuárias onde se produzem suínos de raça Ibérica. A maioria dos inquiridos (69,64%) referiu que tinham avistado javalis nas suas explorações e sabe-se, através de estudos elaborados anteriormente, que estes animais são um reservatório de parasitas e funcionam como elemento propagador de formas de disseminação de agentes em torno das explorações de porco Ibérico (Calero-Bernal *et al.*, 2008; García González, 2010). A maioria dos sistemas de exploração estudados foi o extensivo (77,42%). Estes resultados foram os esperados pois a recolha e processamento das amostras do nosso trabalho, Novembro a Abril de

2011, compreenderam a altura compatível com o aproveitamento da montanha, que segundo o Decreto 158/1999, de 14 de Setembro, modificado pelo Decreto 120/2012, de 29 de Junho começa a 1 de Outubro e termina a 15 de Abril. Os efectivos animais existentes em cada exploração em 2007 e em 2012 mantiveram-se constantes durante este período marcado pela crise económica (Moreno & Aguilera, 2011). A tosse/pneumonia foi a alteração mais nomeada pelos produtores, sendo verificada nos lotes de cria e recria, seguida da morte, seguida da diarreia aguda/crónica também verificada nos lotes de cria e recria e, por último, o emagrecimento, visível nos reprodutores e na recria. Na análise dos factores de risco associados à presença de parasitas nas explorações obtivemos um aumento da presença de *A. suum* e *Metastrongylus* spp. em animais que apresentavam tosse/pneumonia. Em relação a *A. suum* supomos que a causa para a tosse/pneumonia se possa dever às migrações larvares que ocorrem nos pulmões, enquanto para *Metastrongylus* spp. possa estar relacionado com a localização dos adultos nos brônquios e pulmões, ambos com possíveis complicações de processos víricos e/ou bacterianos e/ou parasitários. Quanto à presença de diarreia em animais procedentes de lotes de cria e recria e, tendo em conta que nestes lotes obtivemos prevalências mais elevadas para a Família Eimeriidae, *B. coli*, Subordem Strongylida/L3 de *Oesophagostomum* spp. e *T. suis*, e que todos eles podem provocar quadros intestinais (Frontera Carrión *et al.*, 2009b, 2009c, 2009d e 2009o), supomos que estes agentes pudessem estar a causar a diarreia. Em relação ao emagrecimento nos lotes de recria e reprodutores e tendo em conta que nestes lotes obtivemos prevalências mais elevadas para *B. coli*, Família Eimeriidae e Subordem Strongylida/L3 de *Oesophagostomum* spp., podemos supor que estes agentes pudessem estar a afectar a saúde dos animais estudados e, consequentemente, a diminuir a sua *performance* produtiva (Bilic & Bilkei, 2006; Frontera Carrión *et al.*, 2009b, 2009c, 2009d).

Dos produtores inquiridos que desparasitam o seu efectivo (75%), grande parte deles (54,17%) utilizam a Ivermectina, duas vezes por ano, na Primavera e no Outono e a grande maioria (93,88%) não avalia a eficácia do tratamento. Gião-Gomes (2009) verificou que 58% das 24 explorações realizam desparasitações também duas vezes por ano e que 66% dos produtores utilizam Ivermectina na profilaxia dos seus animais. Theodoropoulos *et al.* (2001) citado por Gião Gomes (2009) registaram valores da ordem dos 78%, sendo estes semelhantes aos obtidos no nosso trabalho. A avaliação da eficácia das desparasitações referida nos trabalhos destes autores foi também realizada por inspecção visual da condição corporal.

A elevada percentagem de uso de avermectinas contrasta com a realidade descrita em publicações dos últimos 20 anos. Estudos realizados na década de 1990 em suiniculturas dinamarquesas revelam que 47% dos produtores inquiridos utilizavam anti-helmínticos do grupo dos Benzimidazóis, 25% do grupo das Tetra-Hidropirimidinas e apenas 13% do grupo das avermectinas (Dangolla, Bjorn, Willeberg, Roepstorff & Nansen, 1996 citado por Gião Gomes, 2009). Também num estudo realizado por Theodoropoulos *et al.* (2001), citado pela

mesma autora, na Grécia, se constatou que o grupo dos Benzimidazóis era o mais utilizado pelos produtores, sendo que as avermectinas e as Tetra-Hidropirimidinas eram preferidas por uma percentagem muito menor, 7% a 14% e 8% a 14% respectivamente. Provavelmente, a generalização verificada nos últimos anos do uso das avermectinas neste sector da produção animal ficar-se-á a dever em grande parte, à sua facilidade de administração, aliada a uma confortável margem de segurança nas doses ministradas, bem como a bons resultados no controlo de nemátodes e artrópodes, face a anti-helmínticos de outros grupos. No trabalho de Theodoropoulos *et al.* (2001) citado por Gião Gomes (2009), foi também comum a utilização do mesmo antihelmíntico por mais de três anos consecutivos.

A profilaxia das parasitoses no porco Ibérico, tal como na maioria das espécies pecuárias, deve preconizar um tratamento estratégico, de toda a população, sempre que possível, antecedido da determinação do grau de parasitismo (em termos de OPG). Análises parasitológicas de rotina, pelo menos quatro a seis vezes por ano, ou antes de cada ciclo produtivo, são aconselháveis (Madeira de Carvalho, 2006). Segundo Molento (2005) o tratamento estratégico consiste em tratamentos farmacológicos pré-determinados ajustados a determinados intervalos de acordo com os factores biológicos e epidemiológicos do parasita e hospedeiro em causa. A avaliação da eficácia do tratamento dever ser realizada por coprologia, sendo que uma redução na contagem dos ovos de menos de 90% é indicativa de resistência (Coles *et al.*, 2006). Concentrações sub-terapêuticas de um antihelmíntico na circulação sanguínea de um animal podem constituir um grave risco de desenvolvimento de resistências a esse produto. O fenómeno de resistência aos antihelmínticos atingiu um nível preocupante, tendo para além das subdosagens outras causas, como o desconhecimento do espectro de acção, farmacodinâmica e farmacocinética do antihelmíntico ou a grande frequência de tratamentos por ano bem como a utilização do mesmo antihelmíntico por períodos de tempo prolongados. Numa situação em que se observe resistência a um determinado princípio activo, não devem ser utilizados antihelmínticos que pertençam à mesma classe (Madeira de Carvalho, 2006). Algumas estratégias terapêuticas têm sido desenvolvidas com vista a tentar reduzir o uso de antihelmínticos, tais como, a utilização de plantas medicinais com propriedades antiparasitárias que contêm, entre outras moléculas, saponinas, alcalóides, aminoácidos não proteicos, lenhina, taninos e outros polifenóis, lactonas e compostos fenólicos (Githiori, Athanasiadou & Thamsborg, 2006; Jackson & Miller, 2006), bem como a utilização de fungos nematófagos e ovo-predadores (Roepstorff *et al.*, 2011). Em relação ao programa profiláctico vacinal do efectivo verificou-se que a grande maioria dos produtores vacina o seu efectivo contra as doenças obrigatórias, Aujeszky e Mal Rubro, acção que devia ser realizada por todos eles.

As medidas de contenção à entrada, nos cercados e nas instalações das explorações servem para impedir a entrada de novos agentes patogénicos na exploração (Mendoza Salcedo *et al.*, 2011). Segundo os resultados obtidos deparamo-nos com falhas nestas medidas, nomeadamente: 1) O

tipo de vedações presentes que em grande parte são simples (94,44%), de pedra (42,59%) e com perfurações (20,37%). 2) A caça desportiva e privada é uma actividade frequente nas explorações analisadas, havendo portanto a possibilidade de contacto dos animais das explorações estudadas com outros de condições sanitárias desconhecidas (Mendoza Salcedo *et al.*, 2011). 3) A média obtida do número de entradas e saídas da exploração foi de duas. Idealmente deveria existir uma só entrada/saída e como princípio básico o acesso deveria permanecer fechado com uma porta e com um sistema de aviso para visitas como, por exemplo, uma campainha (Mendoza Salcedo *et al.*, 2011). 4) Das explorações que possuem rodilúvio à entrada da exploração (51,79%), são uma minoria as que têm desinfectante. 5) Na maioria das explorações não existem instalações próprias para os trabalhadores ou visitantes ocasionais (57,14%). 6) Nas explorações onde existem silos, em grande parte (48,48%) localizam-se longe da entrada. 7) A zona de carga e descarga de animais não é realizada nas proximidades da entrada da exploração (46,43%). 8) Na grande maioria das explorações (80,36%) os visitantes não mudam de roupa quando chegam à exploração. 9) Nas explorações onde existem cercas/instalações de cobrição e de parto (55,36%), a grande maioria (93,55%) são simples e cerca de 40% delas não são limpas, nem desinfetadas após a utilização. As cercas/instalações deveriam ser duplas para que uma esteja em uso e a outra livre, no entanto, podem ser simples se o número de lotes permite que estejam longas temporadas sem usar. A que está em uso deverá ficar vazia quando terminem as cobrições e ser limpa e desinfetada (Mendoza Salcedo *et al.*, 2011). 10) Não existem cercas/instalações de quarentena e isolamento sanitário em grande parte das explorações estudadas (62,50%) e nas que existem não se realiza esta acção em 71,43% dos casos. Deve estar disponível uma área ou local de quarentena isolada das zonas de produção para novas aquisições e outra de isolamento para animais doentes e feridos. Ambas as zonas, assim como os seus comedouros e bebedouros devem estar limpos e desinfetados antes de se introduzirem os animais, com uma ventilação e ambiente independentes do resto da instalação, de modo a diminuir os riscos de transmissão e infecção por agentes patogénicos (Mendoza Salcedo *et al.*, 2011). 11) As instalações para estabulação, e com mais frequência em sistemas tradicionais e extensivos, podem apresentar características construtivas muito básicas que originam deficiências críticas de desenho com repercussão directa sobre a sanidade. Assim, é fundamental uma correcta orientação das pocilgas que impeça a entrada de correntes de ar frio, que facilitariam o aparecimento de problemas respiratórios (Mendoza Salcedo *et al.*, 2011). Caso isto não se verifique, é necessário dispor de sistemas de encerramento/fecho adequados que permitam regular a ventilação das instalações e inclusivé facilitá-las com extractores. Estes sistemas de encerramento e as janelas com redes mosquiteiras também ajudarão a evitar a entrada de aves, roedores e insectos, que podem transportar agentes patogénicos (Mendoza Salcedo *et al.*, 2011). As paredes e telhados devem ser compostas por materiais que assegurem o isolamento térmico nas horas de temperaturas mais extremas (Mendoza Salcedo *et al.*, 2011).

Os solos devem ser constituídos por materiais resistentes e de fácil limpeza e ter uma ligeira inclinação (0,5 a 1,5%) para os colectores de drenagem de efluentes que devem ter um encerramento seguro que impeça o acesso de roedores para a área de produção (Mendoza Salcedo *et al.*, 2011).

As medidas de manejo hígiosanitário e zootécnico são também muito importantes e devem estar inseridas nas medidas de biossegurança juntamente com as medidas de contenção. Os resultados obtidos indicam-nos falhas em algumas destas medidas, designadamente: 1) As zonas de pastoreio foram recentemente pastoreadas aquando do preenchimento do inquérito e da colheita das amostras de fezes na grande maioria das explorações (90,01%). Este aspecto remete-se à importância de se ajustar o número de animais e o tempo de pastoreio em cada cerca para um aproveitamento homogéneo da pastagem. Deve ser previsto o momento em que os animais devem mudar de cerca para que não exista um sobrepastoreio, evitando assim o pisoteio de plantas e a desertificação e, evitando uma contaminação fecal excessiva que poderá produzir reinfecções intensas de coccídeos e helmintes. Para além disso, esta prática interrompe os ciclos de parasitas e agentes infecciosos (Mendoza Salcedo *et al.*, 2011). 2) Em grande parte das explorações (73,21%) são criadas outras espécies animais, maioritariamente Bovinos (56,10%) e Ovinos (41,46%) mas também galinhas (2,44%). Em explorações onde se criam várias espécies animais ou que se partilhem as pastagens, o uso rotatório das parcelas sem sobrepastoreio, alternando suínos com ruminantes, por exemplo, pode ajudar a melhorar o aproveitamento homogéneo da cobertura vegetal e a reduzir as cargas parasitárias das pastagens, rompendo os ciclos parasitários com mais eficácia que fazendo essa rotação de parcelas com uma só espécie, uma vez que excepto em áreas de clima muito seco, é provável que muitos parasitas sobrevivam meses nos terrenos (Mendoza Salcedo *et al.*, 2011; Roepstorff *et al.*, 2011). 3) Em muitas explorações (63,96%) o pastoreio é efectuado em zonas com cursos de água e/ou em áreas encharcadas. Em geral, deveria evitar-se o pastoreio em zonas de risco, nomeadamente áreas encharcadas nas quais as formas de resistência e larvas infectantes podem sobreviver muito tempo (Mendoza Salcedo *et al.*, 2011; Roepstorff *et al.*, 2011). 4) Em grande parte das explorações (52,83%) não existe a prática de rotação de pastagens. O uso de rotações de pastagens reduz a influência de microhabitats com humidade relativa alta mesmo após semanas de seca, que poderá diminuir a sobrevivência de parasitas uma vez que os solos ricos em matéria orgânica permitem a sua sobrevivência, especialmente em microhabitats húmidos ao abrigo da luz solar directa (Mendoza Salcedo *et al.*, 2011; Roepstorff, 2003 e Thamsborg *et al.*, 2010 citados por Roepstorff *et al.*, 2011). 5) Na grande maioria das explorações (72,73%) não há vazios sanitários. A média de vezes por ano em que isso ocorre é uma. O uso continuado das pocilgas faz com que o efeito cumulativo de agentes patogénicos nas instalações seja muito grande, pelo que se deveriam efectuar vazios sanitários três vezes por ano (Mendoza Salcedo *et al.*, 2011). Para tal, em sistemas extensivos poderia dispensar-se temporalmente alguma



instalação para alojamento dos animais durante o vazio sanitário, no entanto, em sistemas intensivos seria mais indicado dispor de duas instalações para alternar (Mendoza Salcedo *et al.*, 2011). 6) Algumas explorações (29,09%) não têm pocilgas adequadas, limpas e secas. A principal função destas pocilgas é a de proporcionar um habitat adequado, limpo e seco, onde os animais permaneçam estabulados durante a noite, ao abrigo das condições climáticas rigorosas (Mendoza Salcedo *et al.*, 2011). Evidentemente, a permanência dos animais nestas instalações será consideravelmente maior em explorações com sistemas mais intensivos, mas as precauções higiosanitárias deveriam ser semelhantes em explorações extensivas, ainda que a sua utilização seja mais limitada ao longo do dia e do ano (Mendoza Salcedo *et al.*, 2011). Este uso continuado faz com que o efeito cumulativo de agentes patogénicos nas instalações seja muito grande e a possibilidade de transmissão e infecção também seja alta (Karamon *et al.*, 2007; Radostitis *et al.*, 2007; Mendoza Salcedo *et al.*, 2011). 7) Na grande maioria das explorações (87,50%) não existe um plano de limpeza e desinfecção nem de controlo de roedores e não existe plano de controlo de insectos em 96,43% explorações. Estas medidas deveriam ser aplicadas para diminuir a contaminação ambiental bem como diminuir o risco de transmissão por hospedeiros de transporte, nomeadamente, insectos e roedores (Tatfeng *et al.*, 2005; Kijlstra *et al.*, 2008; Schuster & Ramirez-Avila, 2008). 8) Na grande maioria das explorações existem cães e/ou gatos, sendo que em muitos casos eles entram nas instalações de produção e, para além disso, muitos deles não são desparasitados nem vacinados. Estes dados são de extrema importância pois os cães apresentam um papel activo no ciclo biológico de algumas parasitoses que afectam os suínos, nomeadamente, Sarcocistiose (Dubey *et al.*, 1989; Frontera Carrión *et al.*, 2009), Hidatidose (Moro & Schantz, 2009) e Balantidiose (Tatfeng *et al.*, 2005; Schuster & Ramirez-Avila, 2008) bem como os gatos, designadamente na Toxoplasmose (Meerburg, Van Riel, Cornelissen, Kijlstra & Mul, 2006).

#### **4.4.3. Parasitofauna individual do porco Ibérico proveniente da análise de amostras biológicas recolhidas, *postmortem*, em matadouros**

##### **4.4.3.1. Prevalência global, intensidade de parasitismo e espécies de *Metastrongylus* spp.**

Relativamente a *A. suum*, dos 100 animais estudados, 8 deles (8,00%) são positivos a este nematode. García-Vallejo (1999) no seu trabalho registou prevalências de 29%, valor superior ao assinalado no nosso trabalho, sendo também o nematode mais prevalente no seu estudo. Quanto às cargas parasitárias, os resultados obtidos no nosso trabalho evidenciam cargas baixas de <50 OPG ou [50,100] OPG. Resultados falsos positivos podem ocorrer quando os ovos de helmintes não embrionados são ingeridos por um suíno não infectado e depois são eliminados com as fezes. Para que esta passagem possa ocorrer, os ovos devem permanecer sem embrionar no meio ambiente e durante a passagem intestinal, e o hospedeiro deve ingerir as fezes.

Resultados falsos negativos podem ocorrer nos suínos, uma vez que eles podem ingerir quantidades significativas de fezes ou de solo contaminado e, *A. suum* pode produzir um grande número de ovos que ficam por embrionar durante períodos de tempo consideráveis (Roepstorff & Nansen, 1998; Roepstorff *et al.*, 2011). Estes autores consideram que, regra geral, contagens de <200 OPG são considerados falsos positivos, uma vez que uma fêmea adulta normalmente produz 400-800 OPG, apesar de poderem existir variações (Roepstorff & Nansen, 1998).

Em relação a *B. coli*, dos 100 animais estudados, 89 deles (89,00%) são positivos a estes protozoários. García-Vallejo (1999) no seu trabalho registou prevalências de 70,00% valor ligeiramente inferior ao assinalado no nosso trabalho. Não foi possível efectuar contagens deste parasita uma vez que não conseguimos visualizá-lo na câmara de McMaster. É um invasor secundário e oportunista, que actua quando existem factores concomitantes, tais como o stress, a fome, a presença de outros parasitas como, por exemplo, os da Família Eimeriidae, *Oesophagostomum* spp., *T. suis*, etc. (Frontera Carrión *et al.*, 2009b). Este aspecto pode ser importante e relevante uma vez que os animais analisados continham ovos destes agentes patogénicos nas suas fezes, o que nos faz supor que os animais analisados poderiam estar em risco de desenvolvimento de Balantidiose.

Quanto a *E. granulosus*, dos 100 animais estudados, 3 deles (3,00%) são positivos a estes céstodos. García-Vallejo (1999) no seu trabalho não assinalou resultados positivos para este parasita. Em relação aos quistos hidáticos analisados, todos eles não apresentaram protoescólex aquando da sua observação ao microscópio e, portanto, estávamos perante um quisto infértil. Tendo em conta este aspecto e sabendo que cada estirpe se adaptou de forma mais intensa para alguns hospedeiros, assim, quando uma estirpe contacta com um hospedeiro intermediário no qual não se especializou, diminui a fertilidade, isto é, diminui a percentagem de quistos com protoescólex, sendo menor também a viabilidade, ou seja, a percentagem de quistos com protoescólex vivos e, por sua vez, a infectividade no hospedeiro intermediário também diminui (Frontera Carrión *et al.*, 2009f).

Se for ingerido por um H.I. inadequado os protoescólex não se desenvolvem e formam-se quistos hidáticos inférteis/estéreis. Estes hospedeiros são considerados acidentais, ou seja, eles podem ser infectados pelos metacéstodos, no entanto, esse estadio não se torna fértil. Neste caso não há transmissão do parasita e o ciclo não se completa (Eckert *et al.*, 2001).

Relativamente à Família Eimeriidae, dos 100 animais estudados, 68 deles (68,00%) são positivos a estes protozoários. García-Vallejo (1999) no seu trabalho registou prevalências de 35,3% para *Eimeria* spp. valor inferior ao assinalado no nosso trabalho. Quanto às cargas parasitárias, os resultados obtidos evidenciam que a maioria dos animais positivos (54%) apresentavam cargas elevadas, entre [501, 1000] e >1000. Este aspecto é importante uma vez que a patogenia é relacionada com a quantidade de oocistos ingeridos e também com a espécie de *Eimeria* e/ou *Cystoisospora* que afecta o animal, uma vez que cada uma delas tem uma



diferente capacidade de penetração e localização na mucosa intestinal. No entanto, como não sabemos o género nem a espécie, não podemos inferir sobre a patogenicidade relativa aos agentes em causa, sendo que o nosso comentário relativo à patogenicidade envolve apenas as cargas parasitárias que como referimos são elevadas na maioria dos animais estudados. Tendo em conta este aspecto, podemos pensar que alguns dos animais pudessem estar realmente doentes.

Dos 100 animais estudados, 53 deles (53%) são positivos a *Metastrongylus* spp. mediante observação directa do pulmão e 25 deles (25%) são positivos a *Metastrongylus* spp. mediante flutuação e sedimentação. De acordo com estes dados podemos inferir quanto à sensibilidade das duas técnicas, sendo que no exame directo de pulmão obtivemos melhores resultados. Quanto às cargas parasitárias, os resultados obtidos no nosso trabalho evidenciam cargas baixas de <50 OPG ou [50,100] OPG, por outro lado, mediante observação directa do pulmão, as cargas médias encontradas foram de 25 parasitas por indivíduo, no entanto, alguns animais apresentaram contagens de 130 parasitas e outros apenas um. García-Vallejo (1999) no seu trabalho registou prevalências de 24% mediante observação directa de pulmão, valor inferior ao assinalado no nosso trabalho, verificando que a maioria dos animais parasitados apresentava cargas baixas nos seus pulmões, entre 1 a 5 parasitas.

Em relação às espécies assinaladas de *Metastrongylus* spp., a espécie mais prevalente é *Metastrongylus apri*, presente em 94,34% (n=50) dos 53 animais positivos, seguido de *M. salmi* presente em 22,64% (n=12) dos mesmos e sendo a espécie menos frequente *M. pudendotectus* com 7,55% (n=4) dos suínos positivos. García-Vallejo (1999) não detectou a presença de *M. pudendotectus* no seu estudo, no entanto, a espécie mais prevalente foi, igualmente, *M. apri*, presente em todos os animais positivos, seguido de *M. salmi*, sendo esta espécie detectada em 42% dos animais positivos. Quanto a *Sarcocystis* spp., dos 110 animais estudados, 100 deles (90,91%) são positivos a estes protozoários. García-Vallejo (1999) no seu trabalho registou prevalências de 67,2% mediante triquinoscopia, valor inferior ao assinalado no nosso trabalho. Não efectuámos contagens para este parasita. Não foi possível efectuar a diferenciação das espécies, no entanto, sabemos que os hospedeiros definitivos mais comuns das espécies de *Sarcocystis* que afectam os suínos são o cão e raposa e também o Homem (Dubey *et al.*, 1989; Frontera Carrión *et al.*, 2009).

Relativamente à Subordem Strongylida, dos 100 animais estudados, 8 deles (8,00%) são positivos a estes parasitas. García-Vallejo (1999) no seu trabalho registou prevalências de 11,8% para *Oesophagostomum* spp., 10,7% para *Ascarops strongylina* e ainda 0,3% para *H. rubidus*. Quanto às cargas parasitárias, os resultados obtidos no nosso trabalho evidenciam cargas baixas de <50 OPG ou [50,100] OPG. Em relação às baixas cargas parasitárias, quando o nível de transmissão é elevado, os suínos respondem imunologicamente aos parasitas, podendo ocorrer uma diminuição de OPG nas fezes (Roepstorff & Nansen, 1998).

Quanto a *T. gondii*, dos 13 animais estudados, 3 deles são positivos a estes protozoários mediante iELISA e nPCR sendo as prevalências reais, respectivamente, de 25,9% e 33,93% de acordo com a sensibilidade e especificidade das técnicas utilizadas. Calero-Bernal *et al.* (2011) no seu estudo em suínos de raça ibérica da *Extremadura* (Espanha) registou prevalências de 22,64% mediante iELISA (n=720) e 61,64% mediante nPCR (n=73). Analisando os resultados apresentados na tabela 44, e tendo em conta a sensibilidade e especificidade de cada técnica, podemos inferir que estes métodos de diagnóstico são complementares. É de referir ainda que se trata do primeiro estudo na Europa de detecção de ADN de *T. gondii* a partir de linfonodos mesentéricos. Através deste estudo comprovámos que a técnica nPCR funciona nestas amostras, podendo assim ser utilizada no diagnóstico de Toxoplasmose e em estudos epidemiológicos desta infecção. Uma das vantagens de se utilizar esta amostra relativamente ao cérebro, amostra utilizada em estudos epidemiológicos anteriores, é a facilidade com que se recolhe a amostra. Em relação a *Trichinella* spp., dos 140 animais estudados nenhum foi positivo a este parasita. O mesmo resultado foi obtido por García-Vallejo (1999). Apesar de ser um parasita de elevada importância a nível de Saúde Pública, as suas prevalências em Espanha, no porco doméstico, são muito baixas (EFSA, 2011).

Relativamente a *T. suis*, dos 100 animais estudados, 24 deles (24,00%) são positivos a este parasita. García-Vallejo (1999) no seu trabalho registou prevalências de 5,4%, valor inferior ao assinalado no nosso trabalho. Quanto às cargas parasitárias, os resultados obtidos no nosso trabalho evidenciam cargas baixas de <50 OPG ou [50,100] OPG na maioria dos animais, sendo que apenas um deles apresentava cargas de >1000 OPG. Presumivelmente, este último estaria parasitado com adultos que eliminam grande quantidade de ovos, sendo os restantes, possivelmente, falsos positivos, devido à ingestão de ovos não embrionados, pelos suínos não infectados, que posteriormente os eliminam com as fezes. Para que esta passagem possa ocorrer, os ovos devem permanecer sem embrionar no meio ambiente e durante a passagem intestinal, e os hospedeiros devem ingerir as fezes. Roepstorff & Nansen (1998) consideram que, regra geral, contagens de <200 OPG são considerados falsos positivos.

#### **4.4.3.2. Prevalência por sexo, idade, município, grau de pureza da raça e sistema de produção**

Os animais do sexo feminino são mais susceptíveis à infecção por *T. suis* ( $p < 0,05$ ) possivelmente devido a respostas imunológicas diferentes, no entanto, na bibliografia consultada não encontramos resultados que pudessem suportar a nossa teoria. Este aspecto poderá ser analisado em estudos posteriores.

Apesar do número de indivíduos analisados de cada um dos grupos não ser constante, os animais jovens (até 20 meses) são mais susceptíveis à infecção pela Subordem Strongylida e *T.*

*suis* ( $p < 0,05$ ) o que está de acordo com a bibliografia consultada (Alcaide *et al.*, 2005; Frontera Carrión *et al.*, 2009d).

Apesar do número de indivíduos analisados de cada um dos municípios não ser constante, os animais procedentes dos municípios de Cáceres e Salorino são mais susceptíveis à infecção pelos parasitas da Família Eimeriidae, *Metastrongylus* spp., Subordem Strongylida e *Trichuris suis* ( $p < 0,05$ ). Tendo em conta os ciclos biológicos e epidemiológicos destes parasitas, provavelmente as condições edafoclimáticas (solo e clima) destes Municípios reúnem características essenciais, nomeadamente de temperatura e oxigenação moderadas (entre 25°C e 30°C), humidade elevada (superior a 75%) e teor de matéria orgânica dos solos elevada (favoráveis às minhocas) propícia à manutenção destas infecções. Os animais procedentes dos municípios de Brozas e Salorino são mais susceptíveis à infecção por *Sarcocystis* spp., possivelmente devido ao maior número de hospedeiros definitivos infectados nestes locais, sejam eles carnívoros domésticos ou selvagens (se a espécie envolvida for *S. miescheriana*) ou ainda devido à falta de controlo das fezes por parte dos Humanos (se a espécie envolvida for *S. suihominis*). De qualquer modo, à partida os Humanos controlam melhor os locais de defecação sendo mais difícil a infecção por parte dos suínos com esporocistos da espécie *S. suihominis*. Outro factor que poderia estar relacionado com a maior presença de hospedeiros definitivos carnívoros nestes municípios e na *Extremadura*, em geral, seria pela ampla diversidade de carnívoros silvestres, especialmente a raposa (García González, 2010).

Apesar do número de indivíduos analisados de cada um dos grupos não ser constante, os animais de raça 75% ibérica são mais susceptíveis à infecção por *B. coli*, Família Eimeriidae, *Metastrongylus* spp., Subordem Strongylida e *T. suis* ( $p < 0,05$ ). A escolha e selecção de animais de raça ibérica pura, autóctone da região estudada é aconselhável uma vez que estes animais serão mais resistentes às infecções pelos referidos parasitas.

Apesar do número de indivíduos analisados de cada um dos grupos não ser constante, os animais criados em sistemas extensivos são mais susceptíveis à infecção pela Subordem Strongylida e *T. suis* ( $p < 0,05$ ), provavelmente devido à maior densidade de animais que existem nestes sistemas, pois tratando-se de parasitas com um ciclo biológico directo, seria mais fácil o contágio uma vez que os adultos existentes eliminam milhares de ovos por grama de fezes. Para além disso, *T. suis* é indicador de más condições higiénicas, assim, podemos inferir que as explorações de sistema extensivo de produção poderão apresentar falhas nas medidas de higiene aplicadas; por outro lado, esta parasitose é cada vez mais associada a sistemas de produção ao ar livre em parques de terra e alimentação em montanha (Navarrete *et al.*, 2005; Frontera Carrión *et al.*, 2009; Roepstorff *et al.*, 2011).

#### **4.4.4. Parasitofauna dos javalis proveniente da análise de amostras biológicas, *postmortem*, recolhidas em montarias**

Relativamente a *A. suum*, obtivemos uma prevalência de 0,43% nos 23 lotes de javalis jovens estudados e 12,2% nos 41 lotes de adultos. Tal como foi anteriormente comprovado por Calero Bernal *et al.*, (2008), o javali é um reservatório de *A. suum* para o porco Ibérico uma vez que estes partilham o mesmo ecossistema em grande parte do seu ciclo produtivo e interagem entre si.

Para *B. coli*, obtivemos uma prevalência de 78,3% nos jovens javalis e 85,4% nos adultos. Apesar de *B. coli* ser um comensal do porco Ibérico e do javali, este último actua como reservatório deste parasita para o porco Ibérico, pois partilham o mesmo habitat e interagem entre si, tal como foi constatado anteriormente por Calero Bernal *et al.* (2008).

Relativamente à Família Eimeriidae, obtivemos uma prevalência de 26,1% nos jovens javalis e 0,5% nos adultos. A prevalência baixa obtida em javalis adultos poderá estar relacionada com o facto de, em condições naturais, os javalis viverem toda a sua vida ao ar livre e ser, portanto, mais difícil a reinfecção pela menor densidade animal. Queremos ainda comentar a prevalência obtida nos lotes sem informação sobre a idade para os parasitas desta Família sendo esta bastante elevada, 92,6%. Se por um lado, a existência de zonas de caça fechadas pode diminuir a prevalência se estes animais forem desparasitados, por outro lado, se não lhes for administrado um anti-parasitário eficaz ou se simplesmente não lhe for administrado, o aumento da densidade animal nestas zonas de caça poderá favorecer o contágio destes parasitas de ciclo biológico directo. Ainda assim, e mais uma vez, o javali actua como reservatório de parasitas da Família Eimeriidae para o porco Ibérico, tal como foi comprovado anteriormente por Calero Bernal *et al.* (2008).

Quanto a *Metastrongylus* spp., obtivemos uma prevalência de 0,87% nos jovens e 0,98% nos adultos mediante flutuação e sedimentação. Através do exame directo de pulmão de 23 javalis investigados, obtivemos uma prevalência global de 65,2%, sendo as cargas médias individuais registadas de 55 parasitas. A prevalência mais elevada e as maiores cargas parasitárias no javali relativamente ao porco Ibérico poderão dever-se a um conjunto de factores como um acesso mais fácil aos hospedeiros intermediários, as minhocas, ausência de anel nasal e de desparasitação e maior longevidade, ou seja, maior possibilidade de contágio ao longo do tempo de vida e efeito acumulativo do parasita. Em relação às espécies assinaladas de *Metastrongylus* spp., no caso dos javalis, a espécie mais prevalente é *M. apri*, 100,0% (n=15) presente em todos os animais positivos, seguido de *M. pudendotectus* presente em 80,0% (n=12) dos mesmos e sendo a espécie menos frequente *M. salmi* com 53,3% (n=8) javalis positivos. García-González (2010) no seu estudo epidemiológico da Metastrongilose nos javalis da *Extremadura* obteve resultados semelhantes, sendo a espécie mais prevalente *M. apri*, seguida de *M. pudendotectus* e, por último, *M. salmi*, confirmando que *M. apri* é a espécie dominante na *Extremadura*. No

caso dos javalis, a espécie dominante nos pulmões esquerdo e direito é *M. apri*, seguida de *M. pudendotectus* e, por último, *M. salmi*. Quanto a este aspecto não podemos realizar nenhuma comparação pois na bibliografia consultada não encontramos dados semelhantes. O rácio fêmea/macho detectado para *Metastrongylus* spp. foi de 1,5 nos javalis, sendo o sexo predominante o feminino. García-González (2010) obteve um rácio fêmea/macho de 3,43. Segundo estes resultados, parece evidente que os machos são menos resistentes que as fêmeas aos mecanismos de defesa desenvolvidos pelos hospedeiros. Dixon (1968) citado por García-González (2010), no seu estudo sobre proporção fêmea/macho, observou como aumentava significativamente a proporção fêmea/macho nos animais reinfectedos comparativamente aos primoinfectados. O autor referiu a existência de algum factor que operasse selectivamente sobre os machos nos animais reinfectedos. Este comportamento apresentado pelo parasita é um mecanismo de sobrevivência. Se as fêmeas são mais resistentes e apresentam uma capacidade de permanecer no hospedeiro definitivo eliminando ovos para o meio exterior, será mantida a expectativa de perpetuar a espécie e a possibilidade de parasitar outros animais. Estes resultados indicam-nos, tal como foi anteriormente comprovado por Calero Bernal *et al.* (2008), que o javali é um reservatório de *Metastrongylus* spp. para o porco Ibérico pelos motivos já referidos. Relativamente à Subordem Strongylida, obtivemos uma prevalência de 34,8% nos jovens e 29,3% nos adultos. Estes resultados indicam-nos, tal como foi anteriormente comprovado por Calero Bernal *et al.* (2008), que o javali é um reservatório de parasitas da Subordem Strongylida para o porco Ibérico pelos motivos já referidos nesta discussão.

Em relação a *M. hirudinaceus*, obtivemos uma prevalência de 13% nos jovens e 0,24% nos adultos. No nosso estudo da parasitofauna do porco Ibérico não obtivemos resultados positivos para este parasita. Estes resultados poderão dever-se a um conjunto de factores como um acesso mais fácil aos hospedeiros intermediários, os escaravelhos, ausência de anel nasal e de desparasitação e maior longevidade, ou seja, maior possibilidade de contágio ao longo do tempo de vida e efeito acumulativo do parasita. Assim, seriam de esperar prevalências mais elevadas nos animais adultos devido ao longo ciclo de vida do parasita, no entanto, a infecção depende em grande medida do número de hospedeiros intermediários da zona onde habitam os suínos, o qual é muito variável segundo as condições climáticas da região (Frontera Carrión *et al.*, 2009). Ainda assim, foi anteriormente comprovado por Calero Bernal *et al.* (2008), que o javali é um reservatório de *M. hirudinaceus* para o porco Ibérico pelos motivos já referidos nesta discussão.

Quanto a *T. suis*, obtivemos uma prevalência de 26,1% nos jovens e 0,98% nos adultos. Em relação às maiores prevalências de *T. suis* nos lotes de javalis jovens comparativamente aos adultos, Alcaide *et al.* (2005) referem que apesar de afectar animais de todas as idades, estes nemátodes são mais frequentes em animais mais jovens, sendo que os adultos, por sua vez, apresentam baixos índices de infecção, provavelmente devido à forte protecção imunitária que desenvolvem nas anteriores infecções. Ainda assim, foi anteriormente comprovado por Calero

Bernal *et al.* (2008), que o javali é um reservatório de *T. suis* para o porco Ibérico pelas razões descritas anteriormente.

#### 4.4.5. Factores de risco

Quanto aos factores de risco, os que mais estão relacionados com a presença de parasitas nas explorações são os relativos às medidas de biossegurança, tais como, o tipo de vedações (pedra, perfuradas), ausência de rodilúvio, ausência de vazão sanitário, presença de cães e/ou gatos nas explorações e nas instalações de produção, ausência de planos de limpeza e desinfecção, controlo de insectos e roedores e ausência de encerramento adequado nos colectores de drenagem de efluentes. Por outro lado, as condições nas pocilgas também influenciam a presença de parasitas nas explorações. Assim, em pocilgas com paredes e telhados sem isolamento térmico, com sistemas de encerramento/fecho inadequados, pocilgas inadequados, que não sejam limpos nem secos, com janelas sem redes mosquiteiras e com solos não SLAT e sem inclinação adequada influenciam a presença de parasitas. Em relação à quantidade/número de factores de risco que influenciam a presença de parasitas na exploração e por ordem decrescente de intensidade obtivemos, *Metastrongylus* spp., *T. suis*, Família Eimeriidae, *A. suum*, Subordem Strongylida e *B. coli*. Estes resultados podem indicar que as explorações estudadas devem melhorar o plano de controlo e prevenção, que deverá incluir medidas de biossegurança, e entre elas as higiosanitárias.

Os factores de risco que influenciam a presença de *A. suum* estão enunciados na tabela 60, no entanto, e não menosprezando os restantes factores de risco obtidos no nosso estudo, queremos destacar que a presença de colectores de drenagem de efluentes sem um encerramento seguro aumenta quase cinco vezes a presença de ovos deste parasita e que na presença de vedações de pedra e perfuradas e em pocilgas com sistemas de encerramento inadequados a presença de *A. suum* nas explorações aumenta quatro vezes. A importância destes aspectos foi referida anteriormente aquando da discussão dos inquéritos de exploração.

Os factores de risco que influenciam a presença de *B. coli* estão enunciados na tabela 61. Do mesmo modo, queremos destacar que a presença deste protozoário aumenta aproximadamente 10 vezes em explorações em que os cães e/ou gatos entram nas instalações de produção e que em explorações com vedações simples a presença deste agente aumenta quase 39 vezes. Estes aspectos também foram comentados anteriormente aquando da discussão dos inquéritos de exploração.

Os factores de risco que influenciam a presença de parasitas pertencentes a esta Família estão enunciados na tabela 62. Queremos destacar que em explorações com vedações de pedra a presença deste nematode pulmonar aumenta quase sete vezes. Além disso, a presença de *Metastrongylus* spp. nas explorações aumenta cinco vezes em animais que apresentem tosse/pneumonia, na presença de sistemas de encerramento inadequados nas pocilgas, bem



como em instalações com paredes e telhados que não permitem o isolamento térmico e também na presença de cães e/ou gatos na exploração. Por último, é ainda de referir que em explorações onde não exista plano de controlo de insectos nem de prevenção para roedores aumenta, respectiva e aproximadamente, três e seis vezes a presença destes parasitas. Todos estes aspectos foram anteriormente comentados aquando da discussão dos inquéritos de exploração.

Os factores de risco que influenciam a presença de parasitas pertencentes à Família Eimeriidae estão enunciados na tabela 63. Neste caso, queremos destacar que a presença destas coccídeas aumenta quase seis vezes em terrenos que não drenem facilmente bem como em pocilgas com paredes e telhados que não permitem o isolamento térmico. Em pocilgas consideradas não adequadas, limpas e secas a presença destes agentes aumenta quase cinco vezes. Uma vez mais referimos que estes aspectos já foram comentados anteriormente nesta discussão.

Os factores de risco que influenciam a presença de ovos da Subordem Strongylida estão enunciados na tabela 64. Queremos destacar, principalmente, que a existência de refúgios para os animais aumenta a presença destes agentes aproximadamente seis vezes em explorações em que esta situação se verifica e ainda que a não existência de encerramento seguro nos colectores de drenagem de efluentes aumenta cerca de oito vezes a presença destes agentes. Estes aspectos já foram comentados anteriormente aquando da discussão dos inquéritos de exploração.

Por último, os factores de risco que influenciam a presença de ovos de *T. suis* estão enunciados na tabela 65. Neste caso, destacamos que em animais com tosse/pneumonia a presença de *T. suis* aumenta quase onze vezes. A presença deste parasita costuma estar associada a outros helmintos (Frontera Carrión *et al.*, 2009o). Neste caso, supomos que será a presença de *Metastrongylus* spp. com a localização de adultos nos brônquios e pulmões mas também de *A. suum* com a migração larvar igualmente nos pulmões, ambos com possíveis complicações de processos víricos e/ou bacterianos, a causar a tosse/pneumonia nos animais estudados, uma vez que o quadro clínico da Tricuriose é marcadamente intestinal. Provavelmente, as parasitoses supracitadas poderão predispor os suínos para a infecção por *T. suis* o que poderá justificar os resultados obtidos. É ainda de referir que a não rotação da pastagem aumenta 10 vezes a presença deste parasita. Estes aspectos já foram comentados anteriormente aquando da discussão dos inquéritos de exploração.

## 5. Conclusões

I. O estudo da parasitofauna do porco Ibérico procedente de amostras de fezes recolhidas, *antemortem*, em lotes de produção de 55 explorações pecuárias da *Extremadura* e *Castilla y León*, Espanha, revelou que todas elas estavam infectadas pelo menos por um parasita, destacando a alta prevalência de *B. coli* (94,5%), Subordem Strongylida (65,5%) e Família Eimeriidae (56,4%) e uma moderada presença de *Metastrongylus* spp. (23,6%), *T. suis* (18,2%) e *A. suum* (12,7%). Identificámos, em cinco de seis explorações estudadas, larvas L3 de

*Oesophagostomum* spp. (83,3%) mediante coprocultura e método de Baermann. As prevalências obtidas para os parasitas por lotes e sistemas de produção presentes nessas mesmas explorações revelaram a mesma tendência observada na prevalência global das explorações suinícolas.

II. Os resultados da análise de factores de risco obtidos, resultantes da análise dos inquéritos efectuados aos produtores/gestores das explorações pecuárias, que mais influenciam a presença de parasitas nessas mesmas explorações são os relativos às medidas de biossegurança, nomeadamente, o tipo de vedações (pedra e perfuradas), ausência de rodilúvio, ausência de vazio sanitário, presença de cães e/ou gatos nas explorações e nas instalações de produção, ausência de planos de limpeza e desinfecção, controlo de insectos e roedores e ausência de encerramento adequado nos colectores de drenagem de efluentes. Por outro lado, as condições nas pocilgas também influenciam a presença de parasitas nas explorações, designadamente, instalações com paredes e telhados sem isolamento térmico, com sistemas de encerramento/fecho inadequados, pocilgas inadequadas, não limpas nem secas, com janelas sem redes mosquiteiras e com solos de materiais de difícil limpeza e sem inclinação adequada.

III. O estudo da realidade parasitológica individual do porco Ibérico da Comunidade Autónoma da *Extremadura*, procedente de amostras biológicas recolhidas, *postmortem*, em matadouros, revelou que todos eles estavam infectados pelo menos por um parasita, destacando a alta prevalência de protozoários, *Sarcocystis* spp. (90%), *B. coli* (89%) e Família Eimeriidae (68%), uma presença moderada de *Metastrongylus* spp. (53% mediante observação directa de pulmão e 25% mediante flutuação e sedimentação), *T. gondii* (24,5% mediante ELISA e 33,9% mediante *nPCR*) e *T. suis* (24%) e uma baixa prevalência de *A. suum* (8%), Subordem Strongylida (8%) e *E. granulosus* (3%) e a ausência de *Trichinella* spp. Os animais do sexo feminino são mais susceptíveis à infecção por *T. suis* ( $p<0,05$ ), os jovens são mais predispostos à infecção por *T. suis* e Subordem Strongylida ( $p<0,05$ ). Os animais procedentes dos municípios de Cáceres e Salorino são mais susceptíveis à infecção pelos parasitas da Família Eimeriidae, *Metastrongylus* spp., Subordem Strongylida e *T. suis* ( $p<0,05$ ), e os procedentes dos municípios de Brozas e Salorino são mais predispostos à infecção por *Sarcocystis* spp. ( $p<0,05$ ), os animais 75% ibéricos são mais susceptíveis à infecção por *B. coli*, Família Eimeriidae, *Metastrongylus* spp., Subordem Strongylida e *T. suis* ( $p<0,05$ ) enquanto os animais criados em sistemas extensivos são mais susceptíveis à infecção por parasitas da Subordem Strongylida e de *T. suis* ( $p<0,05$ ).

IV. Mediante *nPCR*, conseguimos detectar ADN de *T. gondii* a partir de linfonodos mesentéricos, sendo este o primeiro estudo na Europa de detecção de ADN de *T. gondii* nestas amostras biológicas. Tendo em conta a sensibilidade e especificidade das técnicas de ELISA e *nPCR* para diagnóstico de *T. gondii*, sugerimos a utilização de ambos os métodos pela forma como se complementam.

V. O estudo de intensidade de parasitismo individual do porco Ibérico a partir das amostras de fezes recolhidas *postmortem* nos matadouros e analisadas mediante a técnica de McMaster,



revelou que estes animais apresentavam maiores cargas parasitárias para a Família Eimeriidae, seguido de *Metastrongylus* spp. e *T. suis* e menor intensidade parasitária para a Subordem Strongylida e *A. suum*.

VI. O estudo de intensidade de parasitismo individual e das espécies presentes de *Metastrongylus* spp., mediante observação directa do pulmão, revelou que a espécie predominante é *Metastrongylus apri*, presente em 94,34% dos animais positivos, seguido de *M. salmi* presente em 22,64% dos mesmos e de *M. pudendotectus* em 7,55% dos suínos positivos. A carga média parasitária encontrada foi de 25 parasitas por indivíduo. O rácio fêmea/macho detectado foi de 2,23. A espécie dominante no pulmão esquerdo e no direito é *M. apri* seguida de *M. salmi* e de *M. pudendotectus*.

VII. O estudo da parasitofauna dos javalis proveniente da análise de amostras biológicas, *postmortem*, recolhidas em montarias, revelou que para os lotes de jovens e adultos, a infecção por *B. coli* e Subordem Strongylida são as que tomam maiores valores. Prevalências mais baixas foram registadas para os restantes parasitas: Família Eimeriidae, *Metastrongylus* spp., *T. suis*, *Macracanthorhynchus hirudinaceus* e *A. suum*, sendo o javali um reservatório de parasitas para o porco Ibérico uma vez que estes partilham o mesmo ecossistema em grande parte do seu ciclo produtivo e interagem entre si.

VIII. O estudo de intensidade de parasitismo individual e especiação de *Metastrongylus* spp. em javalis, mediante observação directa do pulmão, revelou que a espécie predominante é *M. apri*, presente em 100% dos animais positivos, seguido de *M. pudendotectus* presente em 80% dos mesmos e de *M. salmi* em 53,3% dos javalis positivos. A carga média parasitária encontrada foi de 55 parasitas por indivíduo. O rácio fêmea/macho detectado foi de 1,5. A espécie dominante no pulmão esquerdo e no direito é *M. apri* seguida de *M. pudendotectus* e de *M. salmi*.

## 6. Bibliografía

- Abbasi, I., Branzburg, A., Campos-Ponce, N., Abdel Hafez, S.K., Raoul, F., Craig, P.S. & Hamburger, J. (2003). Copro-diagnosis of *Echinococcus granulosus* infection in dogs by amplification of a newly identified repeated DNA sequence. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 68, 324–330.
- Acha, P., Szyfres, B. (2003a). Zoonosis y Enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Org. Pan. Salud (Ed.), Balantidiosis.
- Acha, P., Szyfres, B. (2003b). Zoonosis y Enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Org. Pan. Salud (Ed.), Macracantorrincosis.
- Acha, P., Szyfres, B. (2003c). Zoonosis y Enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Org. Pan. Salud (Ed.), Toxoplasmosis.
- Acha, P., Szyfres, B. (2003d). Zoonosis y Enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Org. Pan. Salud (Ed.), Sarcocistiosis.
- Alcaide, M., Domínguez-Alpízar, J. L., Frontera Carrión, E. & Navarrete, I. (2005). Tratamiento y control de helmintos en el cerdo Ibérico. Porci - Principais nematodosis en el porcino ibérico, 86, 74-79.
- Akar, S., Gurler, O., Pozio, E., Onen, F., Sari, I., Gerceker, E., Gunes, A. J., Akinci, B., Birlik, M., Akkoc, N. (2007). Frequency and severity of musculoskeletal symptoms in humans during an outbreak of trichinellosis caused by *Trichinella britovi*. *J. Parasitol.*, 93(2), 341-344.
- Alfonso, Y., Fraga, J., Jiménez, N., Fonseca, C., Dorta Contreras, A. J., Cox, R., Capó, V., Bandera, F., Pomier, O., Ginorio, D. (2009). Detection of *Toxoplasma gondii* in cerebrospinal fluid from AIDS patients by nested PCR and rapid identification of type I allele at B1 gene by RFLP analysis. *Exp Parasitol.*, 122, 203-207.
- Allan, J.C., Craig, P.S., Garcia Noval, J., Mencos, F., Liu, D., Wang, Y., Wen, H., Zhou, P., Stringer, R., Rogan, M. e Zeyhle, E. (1992). Coproantigen detection for immunodiagnosis of echinococcosis and taeniasis in dogs and humans. *Parasitology*, 104, 347-356.
- Anargyrou, K., Petrikos, G. L., Suller, M. T. E., Skiada, A., Siakantaris, M. R., Osuntuyinbo, R. T., Pangalis, G., Vaiopoulos, G. (2003). Pulmonary *Balantidium coli* infection in a leukemic patient. *Am. J. Hematol.*, 73, 180-183.
- Aparicio Sánchez, G. (1960). *Zootecnia Especial*. Imprenta Moderna, Córdoba.
- Aparicio Macarro, J. B. (1987). *El cerdo Ibérico*. Premio de Investigación Sánchez Romero Carvajal. Jabugo. S. A.
- Arce L., Domínguez-Vidal A., Rodríguez-Estévez V., López-Vidal S., Ayora-Cañada MJ., Valcárcel M. (2009). Feasibility study on the use of infrared spectroscopy for the direct authentication of Iberian pig fattening diet. *Anal Chim Acta*, 23, 183-189.
- Arness M. K., Brown J. D., Dubey J. P., Neafie R. C., Granstrom D. E. (1999). An outbreak of acute eosinophilic myositis attributed to human *Sarcocystis* parasitism. *Am J Trop Med Hyg.*, 61(4), 548-53.
- Aspinall, T. V., Marlee, D., Hyde, J. E., Sims, P. F. G. (2002). Prevalence of *Toxoplasma gondii* in commercial meat products as monitored by polymerase chain reaction-food for thought? *Int. J. Parasitol.*, 32, 1193-1199.

- Avapal R. S., Sharma J. K., Juyal P. D. (2004) Pathological changes in *Sarcocystis* infection in domestic pigs (*Sus scrofa*). *Vet J.* 168(3), 358-61.
- Ayoade, G. O., Adejinmi, J. O., Abiola, J. O. e Lucas F. (2003). Efficacy of some anthelmintics in porcine practice. *African Journal of Biomedical Research*, 6, 109-110.
- Bartolomé-Álvarez, J., Martínez-Serrano, M., Moreno-Parrado, L., Lorente-Ortuño, S., Crespo-Sánchez, M. D. (2008). Prevalencia e incidencia de la infección por *Toxoplasma gondii* en mujeres en edad fértil en Albacete (2001-2007). *Rev Esp Salud Pública*, 82, 333-342.
- Barutzki, D., Schoierer, R. e Gothe, R. (1990). Helminth infections in wild boars in enclosures in southern Germany: species spectrum and infection frequency. 18(5), 529-34.
- Barreto, A. (2010). Tecnologia de transformação de carnes. Apontamentos da disciplina de Tecnologia dos Produtos Animais II. Lisboa. Faculdade de Medicina Veterinária. Universidade Técnica de Lisboa.
- Barriga, O. (1997). Inmunología de las infecciones parasitarias. *Mediterráneo* (Ed.). Santiago de Chile. (pp.67-101).
- Beato, S.F.A. (2008). Contributo para a caracterização molecular de *Echinococcus granulosus* em Portugal. Dissertação de Mestrado em Ciências Biomédicas. Lisboa: Universidade Nova de Lisboa. Instituto de Higiene e Medicina Tropical.
- Benavides, J., Maley, S., Pang, Y., Palarea, J., Eaton, S., Katzer, F., Innes, E.A., Buxton, D., Chianini, F. (2011). Development of lesions and tissue distribution of parasite in lambs orally infected with sporulated oocysts of *Toxoplasma gondii*. *Vet Parasitol.*, 179, 290-297.
- Benito, J., Menaya, C., Vázquez, C., García, J. e Ferrera, J. (1997). Explotación del cerdo ibérico, la montanera. Hojas divulgadoras de la Consejería de Agricultura de la Junta de Extremadura.
- Benito, A., Carmena, D., Joseph, L., Martínez, J., Guisantes, J.A. (2006). Dog echinococcosis in northern Spain: comparison of coproantigen and serum antibody assays with coprological exam. *Veterinary Parasitology*, 142, 102-111.
- Berdal, B. P., Olsvik, O., Almlid, T., Larsen, H. J., Lorentzen-Styr, A. M. (1983). Comparison between ELISA and Dye Test for detection of naturally acquired *Toxoplasma gondii* antibodies in goat. *Acta Vet. Scand.*, 24, 65-73.
- Bermejo, F. (1992). Cerdo ibérico, pasado, presente y futuro. *Mundo Ganadero* (Ed.) (pp.33-43).
- Bermejo, F. (1995). Situación actual del porcino ibérico. *Mundo Ganadero* (Ed.) (pp.60-63).
- Bermúdez, R., Faílde, L.D., Losada, A.P., Nieto, J.M., Quiroga, M.I. (2009). Toxoplasmosis in Bennett's wallabies (*Macropus rufogriseus*) in Spain. *Vet. Parasitol.*, 160, 155-158.
- Biehl, L. G. (1986). Anthelmintics for Swine. In *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 2, 481-487.
- Blanco, J., Gamito Santos, J. A., Calero Bernal, R., Suárez López, I., Serrano Aguilera, F. J., Pérez-Martín, J. E. (2009). Situación epidemiológica de la trichinellosis en Extremadura (España) en la temporada 2008/2009: peculiaridades detectadas sobre casos de infecciones naturales. *Acta Paras. Port.*, 16 (1), 84-85.
- Botero, D., Restrepo, M. (1998). Parasitosis Humana. Corporación para la investigación. Medellín-Colombia.

- Bowman, D. D., Lynn, R. C., Eberhard, M. L. e Alcaraz, A. (2003). *Georgis' Parasitology for Veterinarians*, Ed. 8. Philadelphia: Saunders - Elsevier.
- Boyer, K.M., Holfels, E., Roizen, N., Swisher, C., Mack, D., Remington, J., Withers, S., Meier, P., McLeod, R. (2005). Risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in mothers of infants with congenital toxoplasmosis, implications for prenatal management and screening. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 192, 564-571.
- Brauer, G., Khan, T., Lans, C. e Turner, N. (2007). Ethnoveterinary medicines used to treat endoparasites and stomach problems in pigs and pets in British Columbia, Canada. *Veterinary Parasitology*, 148, 325-340.
- Breyer I., Georgieva D., Kurdova R., Gottstein B. (2004). *Echinococcus granulosus* strain typing in Bulgaria: the G1 genotype is predominant in intermediate and definitive wild hosts. *Parasitol Res.*, 93(2), 127-30.
- Bruno de Sousa, C., Madeira de Carvalho, L. M., Fazendeiro, I., Castro Rego, F., Afonso-Roque, M. M. (2004) Contribution for the knowledge of Wild Boar (*Sus scrofa* L.) helminthic fauna in Tapada Nacional de Mafra, an enclosed hunting area. *Research and Reviews in Parasitology*, 64 (1-4), 3-7.
- Budke C. M, Deplazes P., Torgerson P. R. (2006). Global socioeconomic impact of cystic echinococcosis. *Emerg Infect Dis.*, 12(2), 296-303.
- Burg, J. L., Perelman, D., Kasper, L. H., Ware, P. L., Boothroyd, J. C. (1988). Molecular analysis of the gene encoding the major surface antigen of *Toxoplasma gondii* oocysts. *J. Immunol.*, 141, 3584-3591.
- Bussi  ras J. (1994). An example of holozoonosis: human coccidiosis due to *Sarcocystis* spp. *Bull Acad Natl Med.*, 178(4), 613-22.
- Calero Bernal, R., Gamito Santos, J. A., Frontera Carrión, E., García, A. e Pérez Martín, J. E. (2008) Importancia de los parásitos del jabalí como reservorio para el porcino extensivo. *Suis*, 52, 24-33.
- Calero-Bernal, R., Gamito-Santos, J.A., García-González, A., Pariente, F. J., Serrano, F. J. e Pérez-Martín, J. E. (2009). Sarcocystiosis del jabalí: zoonosis de amplia distribución en Extremadura. XI Congreso Ibérico de Parasitología. Lisboa. *Acta Paras. Port.*, 16(1), 418-419.
- Calero-Bernal, R., Saugar, J. M., Bailo, B., Bravo-Barriga, D., Reina, D., Serrano-Aguilera e Fuentes, I. (2011). Genotyping of *Toxoplasma gondii* isolates. Multigenic analysis. Libro de Resúmenes del XII Congreso Ibérico de Parasitología. Zaragoza. (pp. 55).
- Calero Bernal, R. (2012). Contribución de los métodos serológicos y moleculares al conocimiento de la epidemiología de *Toxoplasma gondii* en Extremadura. Tesis Doctoral. Universidad de Extremadura. Cáceres.
- Camossi, L. G., Greca-Júnior, H., Corría, A. P. F. L., Richini-Pereira, V., Silva, R. C., Da Silva, A. V., Langoni, H. (2010). Detection of *Toxoplasma gondii* DNA in the milk of naturally infected ewes. *Vet. Parasitol.*, 177, 256-261.
- Carme, B., Bissuel, F., Ajzenberg, D., Bouyne, R., Aznar, C., Demar, M., Bichat, S., Louvel, D., Bourbigot, A. M., Peneau, C., Neron, P., Dard  , M. L. (2002). Severe acquired toxoplasmosis in immunocompetent adult patients in French Guiana. *J Clin Microbiol.*, 40, 4037-4044.
- Carmena D., Sánchez-Serrano L. P., Barbero-Martínez I. (2008). *Echinococcus granulosus* infection in Spain. *Zoonoses Public Health.*, 55(3), 156-65.

- Caspari K, Grimm F, Kühn N, Caspari N. C, Basso W. (2011). First report of naturally acquired clinical sarcocystosis in a pig breeding stock. *Vet Parasitol.*, 19, 175-8.
- Cebollada-Sánchez, R., Benito-Ruesca, R., Gil-Tomás, J., Algarate-Cajo, S., Garrido-Buenache, A., Echazarreta-Bolado, C., Rubio-Calvo, M. C. (2011). Prevalence of toxoplasmosis in Aragón, 1998-2010. Libro de Resúmenes del XII Congreso Ibérico de Parasitología. Zaragoza, España.
- Chen, Z. W., Gao, J. M., Huo, X. X., Wang, L., Yu, L., Halm Lai, F., Xu, Y. H., Song, W. J., Hide, G., Shen, J. L., Lun, Z. R. (2011). Genotyping of *Toxoplasma gondii* isolates from cats in different geographic regions of China. *Vet Parasitol.*, 183, 166-170.
- Chiari Cde A, Neves D. P. (1984). Human toxoplasmosis acquired by ingestion of goat's milk. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 79, 337-40.
- Cho, H. S., S. S. Shin, and N.Y. Park. (2006). Balantidiasis in the gastric lymph nodes of Barbary shepp (*Ammotragus lervia*), an incidental finding. *J. Vet. Sci.*, 7, 207-209.
- Christofi, G., Deplazes, P., Christofi, N., Tanner, I., Economides, P., & Eckert, J. (2002). Screening of dogs for *Echinococcus granulosus* coproantigen in a low endemic situation in Cyprus. *Veterinary Parasitology*, 104, 299-306.
- Cohen, M., Costantino, S. N., Calcagno, M. A., Blanco, G. A., Pozio, E., Venturiello, S. M. (2010). *Trichinella* infection in wild boars (*Sus scrofa*) from a protected area of Argentina and its relationship with the presence of humans. *Vet. Parasitol.*, 169(3-4), 362-366.
- Coles, G. C., Jackson, F., Pomroy, W. E., Prichard, R. K., Samson-Himmelstjerna, G. von., Silveste, A., Taylor, M. A. & Vercruysse, J. (2006). The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Veterinary Parasitology*, 136, 167-185.
- Conceição, M. A. P. (2005). Hydatidosis case study in Cantanhede region. *Acta Parasitologica Portuguesa*, 12(1-2).
- Cordero del Campillo, M. e Argüello, M. R. H. (2002a). Ascariosis. In Cordero del Campillo, M., Rojo Vázquez, F. A., Martines Fernández, A. R., Sánchez Acedo, C., Hernández Rodríguez, S., Navarrete López-Cozar, I., Díez Baños, P., Quiroz Romero, H. & Carvalho Varela, M., *Parasitología Veterinária*. (pp. 469-473). Madrid, España: McGraw-Hill-Interamericana de España, S. A. U.
- Cordero del Campillo, M., Argüello, M. R. H. e Baños, N. D. (2002b). Eimeriosis e Isosporosis. In Cordero del Campillo, M., Rojo Vázquez, F. A., Martines Fernández, A. R., Sánchez Acedo, C., Hernández Rodríguez, S., Navarrete López-Cozar, I., Díez Baños, P., Quiroz Romero, H. e Carvalho Varela, M., *Parasitología Veterinária*. Madrid, España: McGraw-Hill-Interamericana de España, S. A. U.
- Cordero del Campillo, M. & Argüello, M. R. H. (2002c). Esofagostomosis. In Cordero del Campillo, M., Rojo Vázquez, F. A., Martines Fernández, A. R., Sánchez Acedo, C., Hernández Rodríguez, S., Navarrete López-Cozar, I., Díez Baños, P., Quiroz Romero, H. e Carvalho Varela, M., *Parasitología Veterinária*. (pp. 474-477). Madrid, España: McGraw-Hill-Interamericana de España, S. A. U.
- Cordero del Campillo, M. e Argüello, M. R. H. (2002d). Estrongiloidosis. In Cordero del Campillo, M., Rojo Vázquez, F. A., Martines Fernández, A. R., Sánchez Acedo, C., Hernández Rodríguez, S., Navarrete López-Cozar, I., Díez Baños, P., Quiroz Romero, H. & Carvalho Varela, M., *Parasitología Veterinária*. (pp. 467-469). Madrid, España: McGraw-Hill-Interamericana de España, S. A. U.

- Cordero del Campillo, M. e Argüello, M. R. H. (2002e). Nematodos gastricas. Hiostrongilosis, outras tricostrongilidoses, olulanosis, espiruridiosis. In Cordero del Campillo, M., Rojo Vázquez, F. A., Martines Fernández, A. R., Sánchez Acedo, C., Hernández Rodríguez, S., Navarrete López-Cozar, I., Díez Baños, P., Quiroz Romero, H. & Carvalho Varela, M., Parasitología Veterinaria. (pp. 461-467). Madrid, España: McGraw-Hill-Interamericana de España, S. A. U.
- Cordero del Campillo, M. & Argüello, M. R. H. (2002f). Tricuriosis. In Cordero del Campillo, M., Rojo Vázquez, F. A., Martines Fernández, A. R., Sánchez Acedo, C., Hernández Rodríguez, S., Navarrete López-Cozar, I., Díez Baños, P., Quiroz Romero, H. & Carvalho Varela, M., Parasitología Veterinaria. (pp. 478-480). Madrid, España: McGraw-Hill-Interamericana de España, S. A. U.
- Costa, J. (2004). Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) a tiempo real. Enferm. Infecc. Microbiol. Clin., 22, 299-305.
- Cutillas C., Callejón R., de Rojas M., Tewes B., Ubeda J. M., Ariza C., Guevara D. C. (2009). *Trichuris suis* and *Trichuris trichiura* are different nematode species. Acta Trop., 111(3), 299-307.
- Dakkak A. (2010). Echinococcosis/hydatidosis: a severe threat in Mediterranean countries. Vet Parasitol., 24.
- Damriyasa, I. M., Bauer, C. (2006). Prevalence and age-dependent occurrence of intestinal protozoan infections in suckling pigs. Wochenschr, 119, 287-290.
- Damriyasa I. M., Bauer C., Edelhofer R., Failing K., Lind P., Petersen E., Schares G., Tenter A. M., Volmer R., Zahner H. (2004). Cross-sectional survey in pig breeding farms in Hesse, Germany: seroprevalence and risk factors of infections with *Toxoplasma gondii*, *Sarcocystis* spp. and *Neospora caninum* in sows. Vet Parasitol., 15, 271-86.
- Daniel Mwambete K., Ponce-Gordo F., Cuesta-Bandera C. (2004). Genetic identification and host range of the Spanish strains of *Echinococcus granulosus*. Acta Trop., 91(2), 87-93.
- Dauguschies A, Bialek R, Joachim A, Mundt HC. (2001). Autofluorescence microscopy for the detection of nematode eggs and protozoa, in particular *Isospora suis*, in swine faeces. Parasitol Res., May, 87(5), 409-12.
- De Bruyne, A., Ancelle, T., Vallée, I., Boireau, P., Dupouy-Camet, J. (2006). Human trichinellosis acquired from wild boar meat: a continuing parasitic risk in France. Euro Surveill., 11.
- De Buhr, K., Ludewig, M., Fehlhaber, K. (2008). *Toxoplasma gondii* seroprevalence-current results in German swine herds. Arch. Lebensmittelhygiene, 59, 5-8.
- De Craeye, S., Speybroeck, N., Ajzenberg, D., Dardé, M.L., Collinet, F., Tavernier, P., Van Gucht, S., Dorny, P., Dierick, K. (2011). *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in wildlife, Common parasites in Belgian foxes and Cervidae? Vet. Parasitol., 178, 64-69.
- De la Muela N., Hernández de Luján S., Ferre I. (2001). Helminths of wild boar in Spain. J Wildl Dis, 37, 840-843.
- De Sousa, S., Ajzenberg, D., Canada, N., Freire, L., Correia da Costa, J.M., Dardé, M. L., Thulliez, P., Dubey, J. P. (2006). Biologic and molecular characterization of *Toxoplasma gondii* isolates from pigs from Portugal. Vet. Parasitol, 135, 133-136.



- Decreto 158/1999, de 14 de septiembre. Diario Oficial de Extremadura nº127 modificado pelo Decreto 120/2012, de 29 de junio. Consejería de Agricultura, Desarrollo Rural, Medio Ambiente y Energía. Explotaciones porcinas.
- Decreto 230/2005, de 11 de octubre. Diario Oficial de Extremadura nº130. Consejería de Sanidad y Consumo.
- Demar, M., Ajzenberg, D., Serrurier, B., Dardé, M. L., Carme, B. (2008). Case report, atypical *Toxoplasma gondii* strain from a free-living jaguar (*Panthera onca*) in French Guiana. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 78, 195-197.
- Deplazes, P., Alther, P., Tanner, I., Thompson, R.C.A., Eckert, J. (1999). *Echinococcus multilocularis* coproantigen detection by enzyme-linked immunosorbent assay in fox, dog, and cat populations. *Journal of Parasitology*. 85, 115–121.
- Deplazes, P., Gottstein, B., Eckert, J., Jenkins, D. J., Ewald, D. & Jimenez-Palacios, S. (1992). Detection of *Echinococcus* coproantigens by enzyme-linked immunosorbent assay in dogs, dingoes and foxes. *Parasitology Research*, 78, 303-308.
- Deplazes, P., Knapen, F.v., Schweiger, A. & Overgaaauw, P.A.M (2011) Role of pet dogs and cats in the transmission of helminthic zoonoses in Europe, with a focus on echinococcosis and toxocarosis. *Veterinary Parasitology*, 182, 41– 53.
- Desmonts, G., Remington J. S. (1980). Direct agglutination test for diagnosis of *Toxoplasma* infection, method for increasing sensitivity and specificity. *J. Clin. Microbiol.*, 11, 562-568.
- Deutz, A., Fuchs, K., Schuller, W., Nowotny, N., Auer, H., Aspöck, H., Stünzner, D., Kerbl, U., Klement, C., Köfer, J. (2003). Seroepidemiological studies of zoonotic infections in hunters in southestern Austria-prevalences, risk factors, and preventive methods. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.*, 116, 306-311.
- Dias, R.A.F., Navarro, I. T., Ruffolo, B.B., Bugni, F. M., Castro, M. V., Freire, R. L. (2005). *Toxoplasma gondii* in fresh pork sausage and seroprevalence in butchers from factories in Londrina, Paraná State, Brazil. *Rev. Inst. Med. Trop.*, 47, 185-189.
- Diéguez, E. (1992). Cría del cerdo ibérico. *Mundo Ganadero* (Ed.) (pp.25-32).
- Diéguez, E. (1992). Historia, evolución y situación actual del cerdo Ibérico. El cerdo Ibérico, la naturaleza, la dehesa. Simposio del cerdo Ibérico. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. (pp. 9-35) Zafra.
- Directiva 88/661, de 19 de Diciembre. Boletín Oficial do Estado nº382/36. Consejo de las Comunidades Europeas. Madrid.
- Domínguez-Alpízar, J. L., Sáenz, I. E., Alcaide, M. e Reina, D. (2005). Parasitosis gástricas en el cerdo Ibérico: Hiostrongilosis, Ascaropsosis y Fisocefalosis. *Porci – Principais nematodososis en el porcino ibérico*, 86, 44-50.
- Dubey, J.P. (2006). Comparative infectivity of oocysts and bradyzoites of *Toxoplasma gondii* for intermediate (mice) and definitive (cats) hosts. *Vet. Parasitol.*, 140, 69-75.

- Dubey, J. P., Beattie, C. P. (1988). *Toxoplasmosis of animals and man*. CRC Press. Boca Ratón, Florida.
- Dubey, J. P., Huong, L. T., Lawson, B. W., Subekti, D. T., Tassi, P., Cabaj, W., Sundar, N., Velmurugan, G. V., Kwok, O. C., Su, C. (2008b). Seroprevalence and isolation of *Toxoplasma gondii* from free-range chickens in Ghana, Indonesia, Italy, Poland, and Vietnam. *J Parasitol.*, 94, 68-71.
- Dubey, J. P., Lindsay, D. S., Speer, C. A. (1998). Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites, and sporozoites and biology and development of tissue cysts. *Clin. Microbiol. Rev.*, 11, 267-299.
- Dubey J. P, Sharma S. P. (1980) Prolonged excretion of *Toxoplasma gondii* in semen of goats. *Am J Vet Res.*, 41, 794-5.
- Dubey, J. P.; Speer, C.A. e Fayer, R. (1989). *Sarcocystosis of animals and man*. CRC Press. Boca Ratón, Florida.
- Dubey, J. P., Thulliez, P., Weigel, R. M., Andrews, C. D., Lind, P., Powell, E. C. (1995a). Sensitivity and specificity of various serologic tests for detection of *Toxoplasma gondii* infection in naturally infected sows. *Am. J. Vet. Res.*, 56, 1030-1036.
- Dubey J. P., Vianna M. C., Sousa S., Canada N., Meireles S., Correia da Costa J. M. , Marcet P. L., Lehmann T., Dardé M. L., Thulliez P. (2006) Characterization of *Toxoplasma gondii* isolates in free-range chickens from Portugal. *J Parasitol.*, 92,184-6.
- Dupouy-Camet, J. (2000). Trichinellosis: a worldwide zoonosis. *Vet. Parasitol.*, 93(3-4), 191-200.
- Dupouy-Camet, J., Bruschi, F. (2007). Management and diagnosis of human trichinellosis. In: *FAO/WHO/OIE guidelines for the surveillance, management, prevention and control of trichinellosis*. (Eds. Dupouy-Camet, J. & Murrell, K.D.). World Organisation for Animal Health Press, Paris, France, 37-68
- Dupouy-Camet, J., Kociecka, W., Bruschi, F., Bolás-Fernández, F., Pozio, E. (2002). Opinion on the diagnosis and treatment of human trichinellosis. *Expert Opin. Pharmacother.*, 3(8), 1117-1130.
- Dupouy-Camet, J., Murrell, K. D. (2007). *FAO/WHO/OIE, Guidelines for the Surveillance, Management, Prevention and Control of Trichinellosis*. (pp.122).
- Eckert, J. e Deplazes, P. (2004). Biological, epidemiological, and clinical aspects of echinococcosis, a zoonosis of increasing concern. *Clinical Microbiology Reviews*, 17(1), 107-135.
- Eckert, J., Deplazes, P., Craig, P. S., Gemmell, M. A., Gottstein, B., Heath, D., Jenkins, D. J., Kamiya, M. e Lightowlers, M. (2001). Echinococcosis in animals: clinical aspects, diagnosis and treatment. In Eckert, J., Gemmell, M.A., Meslin, F.-X., Pawłowski, Z.S. (Eds.), *Manual on echinococcosis in humans and animals: A public health problem of global concern*, (pp. 72-99). Paris, France: World Organisation for Animal Health (OIE) and WHO. Acedido em Julho 25, 2012, disponível em: <http://whqlibdoc.who.int/publications/2001/929044522X.pdf>.
- EFSA Journal. (2010). Development of harmonised schemes for the monitoring and reporting of *Sarcocystis* in animals and foodstuffs in the European Union Mike.



- EFSA Journal (2011). Scientific Opinion on the public health hazards to be covered by inspection of meat (swine). 9(10), 2351.
- EFSA Journal (2011). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2009.
- Engvall, E., Perlmann, P. (1971). Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Quantitative assay of immunoglobulin G. *Immunochemistry*, 8, 871-874.
- Epe C, Coati N, Schnieder T. (2004). Results of parasitological examinations of faecal samples from horses, ruminants, pigs, dogs, cats, hedgehogs and rabbits between 1998 and 2002. *Dtsch Tierarztl Wochenschr*, 111(6), 243-7.
- Escribano, M. e Pulido, F. (1998). La dehesa en Extremadura. Estructura económica y recursos naturales. Sec. Gral. Técnica. Consej. Agricultura. Junta de Extremadura.
- Esteban, J. G., Aguirre, C., Angles, R., Ash, L. R., and Mas-Coma, S. (1998). Balantidiasis in Aymara children from the northern Bolivian altiplano. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 59, 922-927.
- Esteban Redondo, I., Innes, E. A. (1998). Detection of *Toxoplasma gondii* in tissues of sheep orally challenged with different doses of oocysts. *Int. J. Parasitol.*, 28, 1459-1466.
- Euzéby, J. (2000). Los parásitos de las carnes. Ed. Acribia. Zaragoza.
- Fayer R. *Sarcocystis* spp. in human infections. (2004) *Clin Microbiol Rev.*, 17(4):894-902.
- Fernández García J, Mirón Pérez I. J, Álvarez Porras J. A. (2007). Detección en matadero de sarcosporidiosis generalizada en carne de cerdo. *Suis*, 42, 32-35.
- Ferry, T., Bouhour, D., De Monbrison, F., Laurent, F., Domouchel-Champagnes, H., Picot, S., Piens, M. A., Granier, P. (2004). Severe peritonitis due to *Balantidium coli* acquired in France. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 23, 393-395.
- Figueiredo, D, Mendão, C. (1996). Diarreia em leitões entre os 7 e os 12 dias de vida. Colibacilose ou Coccidiose?. *Veterinária Técnica*, 40-43.
- Fornazari, F., Langoni, H., da Silva, R. C., Guazzelli, A., Ribeiro, M. G., Chiacchio, S. B. (2009) *Toxoplasma gondii* infection in wild boars (*Sus scrofa*) bred in Brazil. *Vet. Parasitol.*, 164, 333-334.
- Freire, L., Castro, A., Silva, E., Costa, J.M., Lopes, D., Rodrigues, A., Gonçalves, A. (2005). Epidemiological study of hydatidosis in vinhais. *Acta Parasitologica Portuguesa*, 12(1-2).
- Frenkel, J. K., Dubey, J. P. (1972). Toxoplasmosis and its prevention in cats and man. *J. Infect. Dis.*, 126, 664-673.
- Frontera Carrión, E., Alcaide, M., Reina, D. e Navarrete, I. (2005b). Parasitosis intestinales en el cerdo ibérico: Ascariosis. *Porci - Principales nematodososis en el porcino ibérico*, 86, 35-39.
- Frontera Carrión, E. M., Pérez Martín, J. E., Alcaide, M., Reina Esojo, D. (2009a). Ascariosis. En Frontera Carrión, E. M. e Reina Esojo, D. *Patología parasitaria porcina en imágenes*. Servet (Ed.). (pp.117-131). Zaragoza, España.

- Frontera Carrión, E. M., Pérez Martín, J. E., Alcaide, M., Reina Esojo, D. (2009b). Balantidiosis. En Frontera Carrión, E. M., e Serrano Aguilera, F. J. Patología parasitaria porcina en imágenes. Servet (Ed.). (pp.47-53). Zaragoza, España.
- Frontera Carrión, E. M., Pérez Martín, J. E., Alcaide, M., Reina Esojo, D. (2009c). Coccidiosis. En Frontera Carrión, E. M. e Serrano Aguilera, F. J. Patología parasitaria porcina en imágenes. Servet (Ed.). (pp.3-16). Zaragoza, España.
- Frontera Carrión, E. M., Pérez Martín, J. E., Alcaide, M., Reina Esojo, D. (2009d). Esofagostomosis. En Reina Esojo, D. e Frontera Carrión, E. M. Patología parasitaria porcina en imágenes. Servet (Ed.). (pp.145-153). Zaragoza, España.
- Frontera Carrión, E. M., Pérez Martín, J. E., Alcaide, M., Reina Esojo, D. (2009e). Estrongiloidosis. En Reina Esojo, D. e Serrano Aguilera, F. J. Patología parasitaria porcina en imágenes. Servet (Ed.). (pp.101-107). Zaragoza, España.
- Frontera Carrión, E. M., Pérez Martín, J. E., Alcaide, M., Reina Esojo, D. (2009f). Hidatidosis. En Pérez Martín, J. E., Calero Bernal, R. e Serrano Aguilera, F. J. Patología parasitaria porcina en imágenes. Servet (Ed.). (pp.79-97). Zaragoza, España.
- Frontera Carrión, E. M., Pérez Martín, J. E., Alcaide, M., Reina Esojo, D. (2009g). Macracantorrincosis. En Pérez Martín, J. E., e Gómez Gordo, L. Patología parasitaria porcina en imágenes. Servet (Ed.). (pp.201-208). Zaragoza, España.
- Frontera Carrión, E. M., Pérez Martín, J. E., Alcaide, M., Reina Esojo, D. (2009h). Metastrongilosis. En Alcaide Alonso, M. e Reina Esojo, D. Patología parasitaria porcina en imágenes. Servet (Ed.). (pp.175-192). Zaragoza, España.
- Frontera Carrión, E. M., Pérez Martín, J. E., Alcaide, M., Reina Esojo, D. (2009i). Nematodosis gástricas. En Reina Esojo, D. e Pérez Martín, J. E. Patología parasitaria porcina en imágenes. Servet (Ed.). (pp.109-116). Zaragoza, España.
- Frontera Carrión, E. M., Pérez Martín, J. E., Alcaide, M., Reina Esojo, D. (2009j). Otras Nematodosis porcinas. En Frontera Carrión, E. M. e Alcaide Alonso, M. Patología parasitaria porcina en imágenes. Servet (Ed.). (pp.193-198). Zaragoza, España.
- Frontera Carrión, E. M., Pérez Martín, J. E., Alcaide, M., Reina Esojo, D. (2009l). Sarcocistiosis. En Frontera Carrión, E. M., Calero Bernal, R. e Hernández Rodríguez, S. Patología parasitaria porcina en imágenes. Servet (Ed.). (pp.37-46). Zaragoza, España.
- Frontera Carrión, E. M., Pérez Martín, J. E., Alcaide, M., Reina Esojo, D. (2009m). Toxoplasmosis. En Frontera Carrión, E. M. e Calero Bernal, R. Patología parasitaria porcina en imágenes. Servet (Ed.). (pp.25-35). Zaragoza, España.
- Frontera Carrión, E. M., Pérez Martín, J. E., Alcaide, M., Reina Esojo, D. (2009n). Tratamiento y control de las helmintosis porcinas. En Frontera Carrión, E. M. e Serrano Aguilera, F. J. Patología parasitaria porcina en imágenes. Servet (Ed.). (pp.201-208). Zaragoza, España.
- Frontera Carrión, E. M., Pérez Martín, J. E., Alcaide, M., Reina Esojo, D. (2009o). Tricuriosis. En Alcaide Alonso, M. e Frontera Carrión, E. M. Patología parasitaria porcina en imágenes. Servet (Ed.). (pp.133-143). Zaragoza, España.

- Frontera Carrión, E. M., Pérez Martín, J. E., Alcaide, M., Reina Esojo, D. (2009o). Triquinelosis. En Pérez Martín, J. E., Gamito Santos, J. A. e Serrano Aguilera, F. J. Patología parasitaria porcina en imágenes. Servet (Ed.). (pp.155-173). Zaragoza, España.
- Fuentes, I. (1999). Desarrollo de técnicas de ADN para el diagnóstico y caracterización de *Toxoplasma gondii*. Aplicación a estudios epidemiológicos. Tesis Doctoral. Universidad Complutense, Madrid.
- Fulton, J. D., Turk, J. K. (1959). Direct agglutination test for *Toxoplasma gondii*. Lancet, 2, 1068-1069.
- Gallardo, M. T., Mateos, L., Artieda, J., Wesslen, L., Ruiz, C., García, M. A., Galmés-Truyols, A., Martín, A., Hernández-Pezzi, G., Andersson, Y., Gárate, T., Christensson, D. (2007). Outbreak of trichinellosis in Spain and Sweden due to consumption of wild board meat contaminated with *Trichinella britovi*. European communicable disease bulletin., 12(3).
- Gallego, C., Saavedra-Matiz, C., Gómez-Marín, J. E. (2006). Direct genotyping of animal and human isolates of *Toxoplasma gondii* from Colombia (South America). Acta Trop., 97, 161-167.
- Gamble, H. R., Dubey, J. P., Lambillote. (2005). Comparison of commercial ELISA with the modified agglutination test for detection of *Toxoplasma* infection in the domestic pig. Vet. Parasitol., 128, 177-181.
- Gamito Santos, J. A. (2011). Estudio integral de la trichinellosis silvestre en Extremadura. Tesis Doctoral, Universidad de Extremadura.
- Gamito Santos, J. A, Blanco Ciudad, J., Calero Bernal, R., Bravo Barriga, D., Neves, M., Serrano Aguilera, F. J. e Pérez Martín, J. E. (2012). Plan de Lucha y Control en el suroeste español. Claves para combatir la “triquinosis”. Caza Mayor, 154.
- Garcia, L. S. (2008). *Balantidium coli*. In N. A. Khan (Ed.), Emerging protozoan pathogens. New York, NY.
- García Vallejo, T. B. 1999. Endoparasitoses del porcino ibérico en Extremadura (España): epidemiología y control. Tesis doctoral. Universidade de Extremadura. Facultad de Veterinaria. Departamento de Sanidad Animal. Área de Parasitología y Enfermedades Parasitarias. Cáceres. España.
- Garippa G. (2006). Updates on cystic echinococcosis (CE) in Italy. Parassitologia 48(1-2), 57-9.
- Garrudo Arias, R. M., Serrano, F. J., Pérez-Martín, J. E., Rosado, D., Mora, J. A., Frontera Carrión, E., Mirón, C., Reina, D. (1999). Epidemiology of *Echinococcus granulosus* in stray dogs at extremadura [spain]. Acta Veterinaria. 10, 39-40.
- Gemmell, M. A., Roberts, M. G., Beard, T. C. e Lawson, J. R. (2001). Epidemiology. In Eckert, J., Gemmell, M.A., Meslin, F.-X., Pawłowski, Z.S. (Eds.), Manual on echinococcosis in humans and animals: A public health problem of global concern, (pp. 143-194). Paris, France: World Organisation for Animal Health (OIE) and WHO. Acedido em Julho 25, 2012, disponível em: <http://whqlibdoc.who.int/publications/2001/929044522X.pdf>
- Gerwert S., Failing K., Bauer C. (2004). Husbandry management, worm control practices and gastrointestinal parasite infections of sows in pig-breeding farms in Münsterland, Germany. Dtsch Tierarztl Wochenschr, 111(10), 398-403.

- Gião Gomes, A. I. J. (2009) Contribuição para a caracterização do parasitismo gastrointestinal e pulmonar em suínos de raça alentejana no distrito de Évora. Tese de Mestrado. Universidade Técnica de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária.
- Githiori, J. B., Athanasiadou, S. e Thamsborg, S. M. (2006) Use of plants in novel approaches for control of gastrointestinal helminths in livestock with emphasis on small ruminants, *Veterinary Parasitology*, 139, 308-320.
- Goldová M., Tóth S., Letková V., Mojžišová J., Ciberej J., Konjević D., Kočíšová J., Slavica A. (2008) Sarcocystosis in cloven-hoofed game in Slovak Republic. *Nat. Croat.*, 17 (4).
- González L. M., Daniel-Mwambete K., Montero E., Rosenzvit M. C., McManus D. P., Gárate T., Cuesta-Bandera C. (2002). Further molecular discrimination of Spanish strains of *Echinococcus granulosus*. *Exp Parasitol.*, 102(1), 46-56.
- González Sánchez E. (2012). Tecnologías de la producción porcina extensiva. Apontamentos do Master Universitario de Gestión de la Ganadería Extensiva. Cáceres. Facultad de Veterinária de la Universidad de Extremadura.
- Guerra, D., Armua-Fernandez, M. T., Silva, M., Bravo, I., Santos, N., Deplazes, P., Madeira de Carvalho, L. M. (2013) - Taeniid species of the Iberian wolf (*Canis lupus signatus*) in Portugal with special focus on *Echinococcus* spp. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 2, 50-53.
- Hampton, J., Spencer, P., Elliot, A., Thompson, R. (2006). Prevalence of zoonotic pathogens from feral pigs in major public drinking water catchments in Western Australia. *EcoHealth*, 3, 103-108.
- Haugegaard J. (2010). Prevalence of nematodes in Danish industrialized sow farms with loose housed sows in dynamic groups. *Vet Parasitol.*, 168(1-2), 156-9.
- Headley S. A., Kummala E., Sukura A. (2008). *Balantidium coli*-infection in a Finnish horse. *Vet Parasitol*, 25, 129-132.
- Herwaldt, B. L. (2001). Laboratory-acquired parasitic infections from accidental exposures. *Clin. Microbiol. Rev.*, 14, 659-688.
- Hidalgo Argüello, M. R., Cordero del Campillo, M., Díez Baños, N. (1999). Parasitosis del aparato respiratorio. *Parasitología Veterinaria*. McGraw-Hill Interamericana (Ed.), Madrid, España.
- Hill, D. E., Chirukandoth, S., Dubey, J. P., Lunney, J. K., Gamble, H. R. (2006). Comparison of detection methods for *Toxoplasma gondii* in naturally and experimentally infected swine. *Vet. Parasitol.*, 141, 9-17.
- Hill, D. E., Haley, C., Wagner, B., Gamble, H. R., Dubey, J. P. (2009). Seroprevalence of and risk factors for *Toxoplasma gondii* in the U.S. swine herd using sera collected during the National Animal Health Monitoring Survey (Swine 2006). *Zoonosis Public Health*, 57, 53-59.
- Hindsbo, O., Nielson, C. V., Anderson, J., Willingham, A. I., Bendixen, M., Nielson, M. A., Nielson, N. O. (2000). Age-dependent occurrence of the intestinal ciliate *Balantidium coli* in pigs at a Danish research farm. *Acta Vet Scand.*, 41, 79-83.

- Hofhuis, A., van Pelt, W., van Duynhoven, Y. T., Nijhuis, C. D., Mollema, L., van der Klis, F. R., Havelaar, A. H., Kortbeek, L. M. (2011). Decreased prevalence and age-specific risk factors for *Toxoplasma gondii* IgG antibodies in The Netherlands between 1995/1996 and 2006/2007. *Epidemiol Infect.*, 139, 530-538.
- Holló, I. G. (1965). Investigations on *Metastrongylus* in swine. II. Some remarks to the morphology of *Metastrongylus salmi* (Gedolest, 1923) with special reference to its differentiation from *M. apri*. *Acta Vet. Acad. Sci. Hung.*, 15, 259-268.
- Howe, D. K., Sibley, L. D. (1995). *Toxoplasma gondii* comprises three clonal lineages, correlation of parasite genotype with human disease. *J. Infect. Dis.*, 172, 1561-1566.
- Humbert, J.F., Henry, C. (1989). Studies on the prevalence and the transmission of lung and stomach nematodes of the wild boar (*Sus scrofa* L.) in France. *J. Wild. Dis.*, 25, 335-341.
- Infante Gil, J. (2005). Manual de inspecção sanitária de carnes: II volume – aspectos especiais. (3rd ed.). Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian.
- Jackson, F. e Miller, J. (2006). Alternative approaches to control - Quo vadit?, *Veterinary Parasitology*. 139, 371-384.
- Jansen, A., Schönenberg, I., Stark, K., Nöckler, K. (2008). Epidemiology of trichinellosis in Germany, 1996-2006. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 8(2), 189-196.
- Jauregui, L.H., Higgins, J., Zarlenga, D., Dubey, J.P., Lunney, J.K. (2001). Development of a real-time PCR assay for detection of *Toxoplasma gondii* in pig and mouse tissues. *J. Clin. Microbiol.*, 39, 2065-2071.
- Jenkins, T., Erasmus, D. A. (1969). The ultrastructure of intestinal epithelium of *Metastrongylus* sp. (Nematoda, *Strongyloidea*). *Parasitology*, 59, 335-342.
- Jenkins D. J., Romig T., Thompson R. C. (2005). Emergence/re-emergence of *Echinococcus* spp.-a global update. *Int J Parasitol*, 35(11-12):1205-19.
- Jiménez, S., Perez, A., Gil, H., Schantz, P.M., Ramalle, E., Juste, R.A. (2002). Progress in control of cystic echinococcosis in La Rioja, Spain: decline in infection prevalences in human and animal hosts and economic costs and benefits. *Acta Tropica*, 83, 213-221.
- Jokelainen, P., Näreaho, A., Knaapi, S., Oksanen, A., Rikula, U., Sukura, A. (2010). *Toxoplasma gondii* in wild cervids and sheep in Finland, north-south gradient in seroprevalence. *Vet. Parasitol.*, 171, 331-336.
- Jones, J. L., Dubey, J. P. (2010). Waterborne toxoplasmosis-Recent developments. *Exp. Parasitol.*, 124, 10-25.
- Kagira J. M., Kanyari P. N., Githigia S. M., Maingi N., Ng'ang'a J. C., Gachohi J. M. (2012). Risk factors associated with occurrence of nematodes in free range pigs in Busia District, Kenya. *Trop Anim Health Prod.*, 44(3), 657-64.
- Kamiya, M. (2008) Echinococcosis/hydatidosis. In OIE (Ed.) Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals: mammals, birds and bees. (6th ed.). (pp. 175-189). Paris: OIE. Acedido

em Agosto 21, 2012, disponível em: [http://www.oie.int/international\\_standardsetting/terrestrial-manual/](http://www.oie.int/international_standardsetting/terrestrial-manual/)

- Kapel, C.M. (2001). Sylvatic and domestic *Trichinella* spp. in wild boars, infectivity, muscle larvae distribution, and antibody response. J. Parasitol., 87(2), 309-314.
- Kapel C. M, Gamble H. R. Infectivity, persistence, and antibody response to domestic and sylvatic *Trichinella* spp. in experimentally infected pigs. Int J Parasitol. 2000 Feb,30(2), 215-21.
- Karamon, J., Ziomko, I., Cencek, T. & Sroka, J.. (2008). Modified flotation method with the use of Percoll for the detection of *Isospora suis* oocysts in suckling piglet faeces. Veterinary Parasitology. Vol. 156, 324-328.
- Kijlstra, A., Meerburg, B., Cornelissen, J., De Craeye, S., Vereijken, P., Jongert, E. (2008). The role of rodents and shrews in the transmission of *Toxoplasma gondii* to pigs. Vet. Parasitol., 156, 183-190.
- Knapp, J., Nakao, M., Yanagida, T., Okamoto, M., Saarma, U., Lavikainen, A. & Ito, A. (2011). Phylogenetic relationships within *Echinococcus* and *Taenia* tapeworms (Cestoda: Taeniidae): An inference from nuclear protein-coding genes. Molecular Phylogenetics and Evolution, 61(3), 628–638.
- Kolevatova, A. I. (1976). Adaptations of the genital system of *Metastrongylus elongates* in relation to the conditions of postembryonic development. Parazitologiya, 10, 255-262.
- Kuhnert Y., Schmäschke R., Dauschies A. (2006). Comparison of different methods for examining the feces of suckling piglets for *Isospora suis*. Berl Munch Tierarztl Wochenschr. 119(7-8),282-6.
- La Rosa, G., Marucci, G., Zarlenga, D. S., Casulli, A., Zarnke, R. L., Pozio, E. (2003). Molecular identification of natural hybrids between *Trichinella nativa* and *Trichinella T6* provides evidence of gene flow and ongoing genetic divergence. Int. J. Parasitol., 33(2), 209-216.
- Laguna, E. (1998). El cerdo ibérico. Mundi Prensa (Ed.).
- Lai M., Zhou R. Q., Huang H. C., Hu S. J. (2011). Prevalence and risk factors associated with intestinal parasites in pigs in Chongqing, China. Res Vet Sci., 91(3), e121-4.
- Langkjær, M. e Roepstorf, A. (2008). Survival of *Isospora suis* oocysts under controlled environmental conditions. Veterinary Parasitology, 152, 3-4.
- Lansa, C., Turner, N., Khan, T. e Brauer. (2007). Ethnoveterinary medicines used to treat endoparasites and stomach problems in pigs and pets in British Columbia, Canadá. 148, 325- 340. Veterinary Parasitology. Vol. 148, 3-4.
- Lappin, M. R., Greene, C. E., Prestwood, A. K., Dawe, D. L., Tarleton, R. L. (1989). Diagnosis of recent *Toxoplasma gondii* infection in cats by use of an enzyme-linked immunosorbent assay for immunoglobulin M. Am. J. Vet. Res., 50, 1580-1585.
- Li J. H., Lin Z., Du J. F., Qin Y. X. (2007). Experimental infection of *Sarcocystis suihominis* in pig and human volunteer in Guangxi. Zhongguo Ji Sheng Chong Xue Yu Ji Sheng Chong Bing Za Zhi, 25(6), 466-8.



- Lopes, A. P., Dubey, J. P., Moutinho, O., Gargaté, M. J., Vilares, A., Rodrigues, M., Cardoso, L. (2011). Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* infection in women from the North of Portugal in their childbearing years. *Epidemiol. Infect.*, 1-6.
- Lopes A. P., Cardoso L., Rodrigues M. (2008) Serological survey of *Toxoplasma gondii* infection in domestic cats from northeastern Portugal. *Vet Parasitol*, 155,184-9.
- Lopes A. P., Santos H., Neto F., Rodrigues M., Kwok O. C., Dubey J. P., Cardoso L. (2011) Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in dogs from northeastern Portugal. *J Parasitol*, 97, 418-20.
- Lopes, A. P., Sargo, R., Rodrigues, M., Cardoso, L. (2011). High seroprevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in wild animals from Portugal. *Parasitol. Res.*, 108, 1163-1169.
- Macpherson C. N. (2005) Human behaviour and the epidemiology of parasitic zoonoses. *Int J Parasitol.*, 35, 1319-31.
- Madeira de Carvalho, L.M. (2006). *Estrongilidose dos Equídeos - Biologia, Patologia, Epidemiologia e Controlo*. Julio Tovar e David Reina. Badajoz, España. (pp. 49).
- Magalhães, A., Bruno, C., Afonso-Roque, M.M., Pereira, I.M., Meireles, J., Fazendeiro, M.I., Madeira, L.M. (2004). The role of wild boar and carnívores in the epidemiology of trichinellosis in Portugal. *Galemys*, 16, 207-210.
- Mainar-Jaime, R.C., Barberán, M. (2007). Evaluation of the diagnostic accuracy of the modified agglutination test (MAT) and an indirect ELISA for the detection of serum antibodies against *Toxoplasma gondii* in sheep through Bayesian approaches. *Vet. Parasitol.*, 148, 122-129.
- Maino A., Garigali G., Grande R., Messa P., Fogazzi G. B. (2010). Urinary balantidiasis, diagnosis at a glance by urine sediment examination. *J. Nephrol.*, 23, 732-737.
- Martín-Hernández, I., García-Izquierdo, S. (2003). Toxoplasmosis en el hombre. *Bioquímica*, 28, 19-27.
- Mathis, A., Deplazes, P., Eckert, J. (1996) An improved test system for PCR-based specific detection of *Echinococcus multilocularis* eggs. *Journal of Helminthology*, 70, 219–222.
- Matsubayashi M., Kita T., Narushima T., Kimata I., Tani H., Sasai K., Baba E. (2009). Coprological survey of parasitic infections in pigs and cattle in slaughterhouse in Osaka, Japan. *J Vet Med Sci.*, 71(8), 1079-83.
- Meerburg, B.G., van Riel, J.W., Cornelissen, J.B., Kijlstra, A., Mul, M.F. (2006). Cats and goat whey associated with *Toxoplasma gondii* infection in pigs. *Vector-Borne Zoonotic Dis.*, 6, 266-274.
- Mendoza Salcedo, J.H., Alonso Rodríguez, J.M., Frontera Carrión Carrión, E.M., Gómez Gordo, L. J., Pérez Martín, J. E., Reina Esojo, D., Rey Pérez, J.M., Sánchez Peinado, J., Serrano Aguilera, F.J. (2011). *Guía de Bioseguridad para Pequeños Rumiantes*. Bayer.
- Meriardi, G., Bardasi, L., Fontana, M. C., Spaggiari, B., Maioli, G., Conedera, G., Vio, D., Londero, M., Marucci, G., Ludovisi, A., Pozio, E., Capelli, G. (2011). First reports of *Trichinella pseudospiralis* in wild boars (*Sus scrofa*) of Italy. *Vet. Parasitol.*, 178(3-4), 370-373.
- Mindaugas Malakauskas, Jadvyga Grikiénienė. (2002). *Sarcocystis* infection in wild ungulates in Lithuania. *Acta Zoologica Lituanica*, 12 (4), 372-380.

- Molento, M. B. (2005). Resistência parasitária em helmintos de equídeos e propostas de manejo. *Ciencia Rural*. 35(6), 1470. Acedido a 12 de Novembro de 2012, disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/cr/v35n6/a41v35n6.pdf>
- Montoya, A., Miró, G., Blanco, M.A., Fuentes, I. (2010). Comparison of nested PCR and real-time PCR for the detection of *Toxoplasma gondii* in biological samples from naturally infected cats. *Res Vet Sci*, 89, 212-213.
- Montoya, A., Miró, G., Mateo, M., Ramírez, C., Fuentes, I. (2009). Detection of *Toxoplasma gondii* in cats by comparing bioassay in mice and polymerase chain reaction (PCR). *Vet Parasitol.*, 160, 159-162.
- Moon M. H. (1987). Serological cross-reactivity between *Sarcocystis* and *Toxoplasma* in pigs. *Kisaengchunghak Chapchi*. 25(2), 188-194.
- Moreno e Aguilera (2011). Sector porcino en España. Acedido em Julho, 5, 2012. Disponível em [http://www.ruralnaturaleza.com/files/sector\\_porcino\\_espana.pdf](http://www.ruralnaturaleza.com/files/sector_porcino_espana.pdf).
- Moro P, Schantz PM. (2009). Echinococcosis: a review. *Int J Infect Dis*. 13(2), 125-33.
- Muñoz, A. (1993). La explotación de la agrupación racial del cerdo ibérico en sistemas extensivos. En *El Sector Porcino, Aspectos básicos*. Mundi Prensa (Ed.), (pp.149-159).
- Murphy, T. M., Walochnik, J., Hassl, A., Moriarty, J., Mooney, J., Toolan, D., Sanchez-Miguel, C., O'Loughlin, A., McAuliffe, A. (2007). Study on the prevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* and molecular evidence of *Encephalitozoon cuniculi* and *Encephalitozoon* (Septata) *intestinalis* infections in red foxes (*Vulpes vulpes*) in rural Ireland. *Vet Parasitol*, 146, 227-234.
- Nakao, M., Yanagida, T., Okamoto, M., Knapp, J., Nkouawa, A., Sako, Y., e Ito, A. (2010). State-of-the-art *Echinococcus* and *Taenia*: phylogenetic taxonomy of human-pathogenic tapeworms and its application to molecular diagnosis. *Infection, Genetics and Evolution*, 10, 444-452.
- Nakauchi, K. (1999). The prevalence of *Balantidium coli* infection in fifty-six mammalian species. *Journal of Veterinary Medicine Science*, 61, 63–65.
- Navarrete, I., Frontera Carrión, E. Alcaíde, M. e Reina, D. (2005). Parasitosis intestinales en el cerdo ibérico: Trixuriasis. *Porci - Principais nematodos en el porcino ibérico*, 86, 35-39.
- Nilles Bije M. L., Rivera W. L. (2010). Ultrastructural and molecular characterization of *Balantidium coli* isolated in the Philippines. *Parasitol Res.*, 106, 387- 394.
- Noda R. (1973). A new species of *Metastrongylus* (Nematoda) from a wild boar with remarks on other species. *Bulletin of University of Osaka Prefecture*, 25, 21-29.
- Nosal, P., Christensen, C. M. e Nansen P. (1998). *Parasitol Res.* – A study on the establishment of *Oesophagostomum dentatum* in pigs following percutaneous exposure to third-stage larvae. 84, 773-776.
- Opsteegh, M., Swart, A., Fonville, M., Dekkers, L., van der Giessen, J. (2011). Age-related *Toxoplasma gondii* seroprevalence in Dutch wild boar inconsistent with lifelong persistence of antibodies. *PLoS One.*, 6, e16240.



- Owen, L. L. (2005). Parasitic zoonoses in Papua New Guinea. *J. Helminthol.*, 79, 1-14.
- Owen, M. R., Clarkson, M. J., Trees, A. I. (1998). Diagnosis of *Toxoplasma* abortion in ewes by polymerase chain reaction. *Vet. Rec.*, 142, 445-448.
- Panadero, R., Paineira, A., López, C., Vázquez, L., Paz, A., Díaz, P., Dacal, V., Cienfuegos, S., Fernández, G., Lago, N., Díez-Baños, P., Morondo, P. (2010). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in wild and domestic ruminants sharing pastures in Galicia (Northwest Spain). *Res Vet Sci.*, 88, 111-115.
- Pakandl, M. (1994). The prevalence of intestinal protozoa in wild and domestic pigs. *Vet. Med.*, 39, 377-80.
- Petersen, E., Liesenfeld, O. (2007). Clinical disease and diagnostic. Weiss, L.M., Kim, K., (Ed.). *Toxoplasma gondii* the model apicomplexan, perspectives and methods, 81-100.
- Pereira A, Bermejo M. (1988). Prevalence of *Sarcocystis* cysts in pigs and sheep in Spain. *Vet Parasitol.*, 27, 353-5.
- Pérez-Martín, J. E., Robledo-Berrocal, J., González-Ruibal, L., Gamito-Santos, J. A., Calero-Bernal, R., Pariente-Palomino, J., Serrano-Aguilera, F. J. (2007). Evolución de la prevalencia de la trichinellosis en Extremadura: epidemiología de los ciclos doméstico y silvestre. X Congreso Ibérico de Parasitología. Madrid (España).
- Pérez-Martín, J. E., Serrano, F., Reina, D., Mora, J. A., Navarrete, I. (2000). Sylvatic trichinellosis in southwestern Spain. *J. Wild. Dis.*, 36(3), 531-534.
- Pilarczyk B, Balicka-Ramisz A, Cisek A, Szalewska K, Lachowska S. (2004). Prevalence of *Eimeria* and intestinal nematodes in wild boar in north-west Poland. *Wiad Parazytol.* 50(3), 637-40.
- Ponce-Gordo F., Fonseca-Salamanca F., Martínez-Díaz R. A. (2011). Genetic heterogeneity in internal transcribed spacer genes of *Balantidium coli* (Litostomatea, Ciliophora). *Protist.*, 162, 774-94.
- Pozio, E. (1998). Trichinellosis in the European Union: epidemiology, ecology and economic impact. *Parasitol. Today*, 14(1), 35-38.
- Pozio, E. (2007). World distribution of *Trichinella* spp. infections in animals and humans. *Vet. Parasitol.*, 149(1-2), 3-21.
- Pozio E. (2008). Epidemiology and control prospects of foodborne parasitic zoonoses in the European Union. *Parassitologia*, 50, 17-24.
- Pozio, E., Hoberg, E., La Rosa, G., Zarlenga, D.S. (2009a). Molecular taxonomy, phylogeny and biogeography of nematodes belonging to the *Trichinella* genus. *Infect. Genet. Evol.*, 9(4), 606-616.
- Pozio, E., Mesina, P., Sechi, F., Pira, M., Liciardi, M., Cossu, P., Marucci, G., Garippa, G., Firinu, A. (2006). Human outbreak of trichinellosis in the Mediterranean island of Sardinia, Italy. *Vet. Parasitol.*, 140(1-2), 177-180.
- Pozio, E., Murrell, K. D. (2006). Systematics and epidemiology of *Trichinella*. *Adv. Parasitol.*, 63, 367-439.

- Pozio, E., Rinaldi, L., Marucci, G., Musella, V., Galati, F., Cringoli, G., Boireau, P., La Rosa, G. (2009b). Host and habitats of *Trichinella spiralis* and *Trichinella britovi* in Europe. *Int. J. Parasitol.*, 39(1), 71-79.
- Radostitis, O. M., Gay, C. C., Hinchcliff K. W. e Constable, P. D., (2007). *Veterinary Medicine. A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats.* (Ed. 10) Saunders – Elsevier.
- Ramírez-Melgar, C., Gómez-Priego, A., De la Rosa, J. L. (2007). Application of Giemsa stain for easy detection of *Trichinella spiralis* muscle larvae. *Korean J. Parasitol.*, 45(1), 65-68.
- Richomme, C., Afonso, E., Tolon, V., Ducrot, C., Halos, L., Alliot, A., Perret, C., Thomas, M., Boireau, P., Gilot-Fromont, E. (2010). Seroprevalence and factors associated with *Toxoplasma gondii* infection in wild boar (*Sus scrofa*) in a Mediterranean island. *Epidemiol Infect.*, 138, 1257-1266.
- Real Decreto 1469/2007 de 2 de Noviembre. Boletín Oficial do Estado nº264. Ministerio da Agricultura, Pesca y Alimentación. Madrid.
- Regulamento de Execução (UE) nº 1109/2011 da Comissão de 3 de Novembro de 2011. Jornal Oficial da União Europeia nº 287/23.
- Regulamento (CE) nº 1245/2007 da Comissão de 24 de Outubro de 2007. Jornal Oficial da União Europeia nº 281/19.
- Regulamento (CE) nº 1665/2006 da Comissão, de 6 de Novembro de 2006. Jornal Oficial da União Europeia nº 320/46.
- Regulamento (CE) nº 2075/2005 da Comissão de 5 de Dezembro de 2005. Jornal Oficial da União Europeia nº 338/60.
- Reina, D., Dominguez Alpizar, J. L., Frontera Carrión, E. e Navarrete, I. (2005). Parasitosis intestinales en el cerdo ibérico: Esofagostomosis. Porci - Principais nematodos en el porcino ibérico, 86, 29-32.
- Reina, D., Frontera Carrión, E. M. e Alonso, M. A. (2006). Parasitosis en porcino ibérico, Desarrollo de una línea de investigación. Cáceres, Facultad de Veterinária, Universidad de Extremadura.
- Rodríguez de las Parras, E., Rodríguez-Ferrer, M., Nieto-Martínez, J., Ubeira, F. M., Cárate-Ormaechea, T. (2004). Revisión de los brotes de triquinosis detectados en España durante 1990-2001. *Enferm. Infect. Microbiol. Clin.*, 22(2), 70-76.
- Roepstorff A., Nansen P. (1994). Epidemiology and control of helminth infections in pigs under intensive and non-intensive production systems. *Vet Parasitol.*, 54(1-3), 69-85.
- Roepstorff, A. e Nansen, P. (1998). *Animal Health Manual - Epidemiology diagnosis and control of Helminth parasites of swine.* Roma: FAO.
- Roepstorff A., Mejer H., Nejsum P., Thamsborg S. M. (2011). Helminth parasites in pigs, new challenges in pig production and current research highlights. *Vet Parasitol.*, 180, 72-81.
- Rojo-Vazquez F. A., Pardo-Lledias J., Francos-Von Hunefeld M., Cordero-Sanchez M., Alamo-Sanz R., Hernandez-Gonzalez A., Brunetti E., Siles-Lucas M. (2011). Cystic echinococcosis in Spain: current situation and relevance for other endemic areas in Europe. *PLoS Negl Trop Dis.*, 5(1), e893.
- Romano, F., Motta, A., Melino, M., Negro, M., Gavotto, G., Decasteli, L., Careddu, E., Bianchi, C., Bianchi, D.M., Pozio, E. (2011). Investigation on a focus of human trichinellosis revealed by an

atypical clinical case: after wild-boar (*Sus scrofa*) pork consumption in northern Italy. *Parasite*, 18(1), 85-87.

- Romig T., Dinkel A., Mackenstedt U. (2006). The present situation of echinococcosis in Europe. *Parasitol Int.*, 55, 187-91.
- Rosypal, A. C., Bowman, D. D., Holliman, D., Flick, G. J., e Lindsay, D. S.. (2007). Effects of high hydrostatic pressure on embryonation of *Ascaris suum* eggs. *Veterinary Parasitology*. 145, 86-89.
- Ruiz, J. (1993). Influencia de la alimentación sobre las características y composición de la grasa subcutánea y hepática del cerdo Ibérico. Tesis de Licenciatura. Universidad de Extremadura.
- Ruttkowski B., Joachim A., Dauschies A. (2001). PCR-based differentiation of three porcine *Eimeria* species and *Isospora suis*. *Vet Parasitol.*, 95(1), 17-23.
- Saénz de Buruaga, M., Lucio, A. J., Purroy, J., (1991). Reconocimiento de sexo y edad en especies cinegéticas. In: Gobierno Vasco (Ed.), Vitoria, Spain, (pp. 127).
- Sánchez-Murillo, J.M. (2001). Revisión de las zoonosis protozoarias. Leishmaniosis y Toxoplasmosis. Zoonosis en Extremadura. Consejería de Sanidad y Consumo. Junta de Extremadura. (Ed.) (pp. 61-92).
- Sampedro, A., Mazuelas, P., Rodríguez-Granger, J., Torres, E., Puertas, A., Navarro, J.M. (2010). Marcadores serológicos en gestantes inmigrantes y autóctonas en Granada. *Enferm Infecc Microbiol Clin.*, 28, 694-697.
- Schuster, F. L. e Ramirez-Avila, L. 2008. Current world status of *Balantidium coli*. California. *Clin. Microbiol. Rev.*, 21, 626-38.
- Scott, J.C. e McManus, D.P. (1994). The random amplification of polymorphic DNA can discriminate species and strains of *Echinococcus*. *Tropical Medical Parasitology*, 45, 1-4.
- Seimenis A. (2003). Overview of the epidemiological situation on echinococcosis in the Mediterranean region. *Acta Trop.*, 85(2), 191-5.
- Senlik B., Cirak V. Y., Girisgin O., Akyol C. V. (2011). Helminth infections of wild boars (*Sus scrofa*) in the Bursa province of Turkey. *J Helminthol*, 85, 404-408.
- Serrano Aguilera, F. J.; Frontera Carrión, E., Gómez Nieto, C., Habela Martínez Estélez, M. A., Pérez Martín, J. E., Reina Esojo, D., Calero Bernal, R., Carcelén Rodríguez, J., Fernández Cotrina, J., Gamito Santos, J. A., Iniesta Orozco, V., Pariente Palomino, F. J., Suárez López, I., Gómez Blázquez, M., Monroy Pérez, I., Baz Agudo, V. e Pajares del Sol, P. (2010). Manual Práctico de Parasitología Veterinaria. Universidad de Extremadura. Cáceres, España.
- Sharma, S., and Harding, G. (2003). Necrotizing lung infection caused by the protozoan *Balantidium coli*. *Can. J. Infect. Dis.*, 14, 163-166.
- Shuhaiber, S., Koren, G., Boskovic, R., Einarson, T. R., Soldin, O. P., Einarson A. (2003). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection among veterinary staff in Ontario, Canada (2002), implications for teratogenic risk. *BMC Infect. Dis.*, 3, 1-5.
- Silva, M., Ferreira, I. B., Guerra, D., Deplazes, P., Rio-Maior, H., Nakamura, M., Álvares, F., Santos, N., e Madeira de Carvalho, L.M. (2012). Rastreo de parasitas gastrointestinais, pulmonares e

musculares em canídeos domésticos e silvestres no Norte de Portugal. Livro de Resumos, III Congresso Ibérico do Lobo, Lugo, Espanha, 23-25 de Novembro de 2012, pp. 57.

- Siracusano, A., Delunardo, F., Teggi, A., Ortona, E. (2012) Host-parasite relationship in cystic echinococcosis: an evolving story. *Clinical and Developmental Immunology*.
- Sobrino R., Gonzalez L. M., Vicente J., Fernández de Luco D., Garate T., Gortázar C. (2006). *Echinococcus granulosus* (Cestoda, Taeniidae) in the Iberian wolf. *Parasitol Res.*, 99(6), 753-6.
- Solaymani-Mohammadi S., Mobedi I., Rezaian M., Massoud J., Mohebalí M., Hooshyar H., Ashrafi K., Rokni M. B. (2003). Helminth parasites of the wild boar, *Sus scrofa*, in Luristan province, western Iran and their public health significance. *J Helminthol*, 77, 263-267.
- Solaymani-Mohammadi S., Rezaian M., Hooshyar H., Mowlavi G. R., Babaei Z., Anwar M. A. (2004). Intestinal protozoa in wild boars (*Sus scrofa*) in western Iran. *J Wildl Dis.*, 40, 801-803.
- Sotillo, J. L. e Serrano, V. (1985). Producción Animal. Etnología Zootécnica. Tomos I y II. En Tebar Flores (Ed.). Madrid.
- Sotiraki S., Chaligiannis I. (2010). Cystic echinococcosis in Greece. Past and present. *Parasite*, 17(3), 205-10.
- Steenhard, N. R., Roepstorff, A., Baggensen, D. L., Boes, J., Jesen, T.K., Aasted, B., Ornbjerg, N. (2006). Studies on the interaction between *Salmonella enterica ser. Typhimurium* and intestinal helminths in pigs. *Veterinary Parasitology*. 139, 158-167.
- Štefanić, S., Shaikenov, B.S., Deplazes, P., Dinkel, A., Torgerson, P.R., Mathis, A. (2004). Polymerase chain reaction for detection of patent infections of *Echinococcus granulosus* ("sheep strain") in naturally infected dogs. *Parasitology Research*, 92, 347-351.
- Straka S., Skraciková J., Konvit I., Szilágyiová M., Michal L. (1991) *Sarcocystis* species in Vietnamese workers. *Cesk Epidemiol Mikrobiol Imunol.*, 40, 204-8.
- Sykes J. E., Dubey J. P., Lindsay L. L., Prato P., Lappin M. R., Guo L. T., Mizisin A. P., Shelton G. D. (2011). Severe myositis associated with *Sarcocystis* spp. infection in 2 dogs. *J Vet Intern Med.*, 25(6), 1277-83.
- Takumi, K., Franssen, F., Fonville, M., Grasset, A., Vallée, I., Boireau, P., Teunis, P., Van der Giessen, J. (2010). Within-host dynamics of *Trichinella spiralis* predict persistent parasite transmission in rats populations. *Int. J. Parasitol.*, 40(11), 1317-1324.
- Takumi, K., Teunis, P., Fonville, M., Vallee, I., Boireau, P., Nöckler, K., Van der Giessen, J. (2009). Transmission risk of human trichinellosis. *Vet. Parasitol.*, 159(3-4), 324-327.
- Tamboura H. H., Banga-Mboko H., Maes D., Youssao I., Traore A., Bayala B., Dembele M. A. (2006). Prevalence of common gastrointestinal nematode parasites in scavenging pigs of different ages and sexes in eastern centre province, Burkina Faso. *Onderstepoort J Vet Res.*, 73, 53-60.
- Tatfeng, Y. M., Usuanlele, M. U., Orukpe, A., Digban, A. K., Okodua, M., Oviasogie, F., and Turay, A. (2005). Mechanical transmission of pathogenic organisms, the role of cockroaches. *J. Vector Borne Dis.*, 42, 129-134.

- Tappe, D., Kern, P., Frosch, M. e Kern, P (2010). A hundred years of controversy about the status of *Echinococcus* species. *Acta Tropica*, 115, 167-174.
- Tejerina D., García-Torres S., de Vaca M. C., Vázquez F. M., Cava R. (2012) Study of variability in antioxidant composition and fatty acids profile of *Longissimus dorsi* and *Serratus ventralis* muscles from Iberian pigs reared in two different Montanera seasons. *Meat Sci.*, 90(2), 414-419.
- Thamsborg, S. M., Roepstorff, A. e Larsen, M. (1999). Integrated and biological control of parasites in organic and conventional production systems. *Veterinary Parasitology*, 84, 169-186.
- Thevenet, P. S., Jensen, O., Drut, R., Cerrone, G. E., Grenóvero, M. S., Alvarez, H. M, Targovnik, H.M., Basualdo, J.A. (2005). Viability and infectiousness of eggs of *Echinococcus granulosus* aged under natural conditions of inferior arid climate. *Veterinary Parasitology*, 133(1), 71-77.
- Thomas V, Dissanaik AS. Antibodies to *Sarcocystis* in Malaysians. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1978;72(3):303-6.
- Thompson R. C. (2009). *Echinococcus*, *Giardia* and *Cryptosporidium*: observational studies challenging accepted dogma. *Parasitology*. 136(12), 1529-35.
- Thompson, R. C. A. e McManus, D. P. (2002). Towards a taxonomic revision of the genus *Echinococcus*. *Trends in Parasitology*, 18, 452–457.
- Tomasoni, L. R., Sosta, E., Beltrame, A., Rorato, G., Bigoni, S., Frusca, T., Zanardini, C., Driul, L., Magrini, F., Viale, P., Castelli, F. (2010). Antenatal screening for mother to child infections in immigrants and residents, the case of toxoplasmosis in northern Italy. *J Immigr Minor Health.*, 12, 834-840.
- Torgerson P. R., Budke C. M. (2003). Echinococcosis-an international public health challenge. *Res Vet Sci.*, 74(3), 191-202.
- Torgerson, P.R. e Deplazes, P. (2009). Echinococcosis: diagnosis and diagnostic interpretation in population studies. *Trends in Parasitology*, 25, 164–170.
- Trachsel, D., Deplazes, P. e Mathis, A. (2007). Identification of taeniid eggs in the faeces from carnivores based on multiplex PCR using targets in mitochondrial DNA. *Parasitology*, 134, 911–920.
- Umhang, G., Woronoff-Rhen, N., Combes, B. & Boué, F. (2011) Segmental sedimentation and counting technique (SSCT): an adaptable method for qualitative diagnosis of *Echinococcus multilocularis* in fox intestines. *Experimental Parasitology*, 128, 57–60.
- Urquhart, G. M., Armour, J., Duncan, J. L., Dunn, A. M., e Jennings, F. W. (1996). *Parasitologia Veterinária*. Guanabara Koogan (Ed.).
- Uysal H. K., Boral O., Metiner K., Ilgaz A. (2009). Investigation of intestinal parasites in pig feces that are also human pathogens. *Turkiye Parazitolo Derg.* 33, 218-221.
- Vaillant, V., De Valk, H., Baron, E., Ancelle, T., Colin, P., Delmas, M.C., Dufour, B., Pouillot, R., Le Strat, Y., Weinbreck, P., Jouglu, E., Desenclos, J.C. (2005). Foodborne infections in France. *Foodborne Pathog. Dis.*, 2, 221-232.

- Varcasia A., Canu S., Lightowlers M. W., Scala A., Garippa G. (2006). Molecular characterization of *Echinococcus granulosus* strains in Sardinia. *Parasitol Res.*, 98(3), 273-7.
- Vasilakopoulou, A., Dimarongona, K., Samakovli, A., Papadimitris, K., Avlami, A. (2003). *Balantidium coli* pneumonia in an immunocompromised patient. *Scand. J. Infect. Dis.*, 35, 144-146.
- Villari, S., Vesco, G., Petersen, E., Crispo, A., Buffolano, W. (2009). Risk factors for toxoplasmosis in pigs bred in Sicily, Southern Italy. *Vet. Parasitol.*, 161, 1-8.
- Villena, I., Ancelle, T., Delmas, C., Garcia, P., Brezin, A. P., Thulliez, P., Wallon, M., King, L., Goulet, V., (2010). Congenital toxoplasmosis in France in 2007, first results from a national surveillance system. *Euro Surveill.*, 15.
- Waap H, Vilares A, Rebelo E, Gomes S, Angelo H. (2008) Epidemiological and genetic characterization of *Toxoplasma gondii* in urban pigeons from the area of Lisbon (Portugal). *Vet Parasitol*, 157, 306-9.
- Wang T., Dou G., Yan W., Zhang L., Han L., Ding K., Jia C., Zhang M., Yu D. (2011). Population characterization of *Balantidium coli* from pigs using ITS1-5.8S rRNA-ITS2 sequence. *Wei Sheng Wu Xue Bao*, 51, 828-834.
- Weng, Y. B., Hu, Y. J., Li, D. S., Lin, R. Q., Xie, D. H., Gasser, R. B., Zhu, X. Q. (2005). Survey of intestinal parasites in pigs from intensive farms in Guangdong province, Peoples Republic of China. *Vet Parasitol.*, 127, 333-336.
- Williamson, J. M., Williams, H., Sharman, G. A. (1980). Toxoplasmosis in farmed red deer (*Cervus elaphus*) in Scotland. *Res Vet Sci.*, 29, 36-40.
- Yu S. (1991). Field survey of sarcocystis infection in the Tibet autonomous region. *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao*. 13(1), 29-32.

## Anexos

### Anexo 1. Actividades desenvolvidas durante o estágio

#### Descrição das actividades de carácter formativo realizadas durante o estágio

Relativamente ao seguimento das actividades diárias no Laboratório de Parasitologia do Hospital Veterinário da Faculdade de Veterinária da UEX, estas actividades ocorreram durante os primeiros dois meses de estágio, em Setembro e Outubro, entre as 12 e as 15 horas. As actividades desenvolvidas eram relativas a amostras que chegavam ao Laboratório de Parasitologia do Hospital Veterinário que, na sua maioria, eram amostras fecais de várias espécies animais. Assim, as técnicas de diagnóstico efectuadas foram as coprológicas de rotina, quer qualitativas (Flutuação e Sedimentação), quer quantitativas (McMaster). Durante este período tivemos também oportunidade de reaprender o método Oficial de diagnóstico de *Trichinella* spp. (Regulamento CE 2075/2005) e de aprender o método de Erber modificado por Serrano *et al.* (2010) para o diagnóstico de *Sarcocystis* spp.; também assistimos e colaborámos em 5 aulas práticas (das 12 horas às 15 horas) sobre exame da musculatura e de vísceras da disciplina de Doenças Parasitárias e ainda numa aula prática (das 16 horas às 20 horas) sobre a presença de parasitas na carne (*Trichinella* spp., *Sarcocystis* spp., *Toxoplasma gondii*, *Cysticercus cellulosae*, *Cysticercus bovis*), do Master Oficial da Ciência e Tecnologia da Carne. O restante tempo livre destes dois meses foi passado na biblioteca do Departamento de Parasitologia a consultar bibliografia de interesse para a realização desta dissertação.

Quanto ao acompanhamento de Médicos Veterinários inspectores de actividades cinegéticas de caça maior em municípios da Comunidade Autónoma da *Extremadura* e ao acompanhamento de Médicos Veterinários de Sanidade Animal em algumas das actividades veterinárias nos Centros de Saúde *Extremeños*, concretamente a visita a uma Indústria de tratamento de carnes de caça maior, estas actividades complementam-se, uma vez que o acompanhamento dos Médicos Veterinários inspectores em montarias foi seguido pela inspecção dessa carne ao nível da Indústria de carne de caça. O número de montarias nas quais estivemos presentes foram três e o número de visitas à Indústria de carne de caça foram duas. Relativamente à assistência em montarias, o principal objectivo foi conhecer quais as actividades efectuadas pelo Médico Veterinário inspector no controlo sanitário das carnes de caça maior e também colher algumas amostras de javali (fezes, pulmões, pilares de diafragma e sangue) para a realização de um estudo comparativo com os resultados encontrados da parasitofauna do porco Ibérico, a fim de seguir uma linha de investigação já presente no Departamento de Sanidade Animal, Unidade de Parasitologia da FVC. Para o estudo comparativo entre a parasitofauna do porco Ibérico e a do javali, contribuiu, ainda, o grupo de pessoas que trabalha no departamento das Doenças



Infecciosas da FVC, colaborando na colheita de amostras de fezes em montarias. A amostragem em montarias começou dia 19 de Novembro de 2011 e terminou dia 2 de Fevereiro de 2012. Assim, no caso das amostras de fezes, de um total de 18 montarias analisadas por lotes (jovens, adultos e sem informação sobre a idade), em 15 delas as fezes foram facultadas pelo grupo das Doenças Infecciosas.

A inspecção *postmortem* das carcaças *in situ* é obrigatória em todas as montarias, sempre e quando algumas das suas peças estejam destinadas ao comércio de carne para consumo humano. Na *Extremadura* esta inspecção é realizada pelo Médico Veterinário Oficial (MVO), que segundo o Decreto 230/2005, é um Médico Veterinário que pertence ao Serviço *Extremeño* de Saúde. Ainda segundo este decreto, a propriedade onde se realiza a montaria deve ter instalações mínimas para realizar a inspecção *postmortem* que cumpram os seguintes requisitos: superfícies de solo, tecto e paredes (se for o caso) de material liso, impermeável, de fácil limpeza e desinfecção, de dimensões suficientes para o número e tamanho de peças de carne previstas; o solo deverá ter uma inclinação suficiente para que não ocorra acumulação de líquidos, o que ajuda a melhorar a higiene; o sistema ou equipamento de iluminação deve ser adequado, incluindo equipamentos portáteis para que o Médico Veterinário possa realizar a inspecção das carcaças com segurança; ventilação adequada, para evitar o aumento da contaminação; água em quantidade suficiente e em qualidade; fossa, contentor ou local suficientemente isolado, destinado ao depósito de rejeições e resíduos, assim como a sua posterior eliminação; e, por último, mesa e cadeira para a realização das actas e guias sanitárias. Seguidamente, descrevemos o percurso relativo ao acto de inspecção nas montarias. Quando todas as carcaças chegam à zona de inspecção, os operadores da Indústria de caça, no caso das carcaças abatidas irem para a Indústria, começam a realizar a evisceração, e é então quando o MVO realiza a inspecção *postmortem* de cada uma das carcaças. A inspecção deve ser semelhante à que se efectua nos matadouros, ainda que deva ser tomado em conta que a carne de caça é extremamente perigosa para a transmissão de doenças infecciosas zoonóticas, de onde se destaca a tuberculose. É de grande importância a realização de uma inspecção pormenorizada dos linfonodos, principalmente no javali, efectuando-se cortes ao nível dos linfonodos retrofaríngeos e submandibulares. Em caso de aparecimento de lesões compatíveis com as de Tuberculose, a carcaça deve ser rejeitada. Também se deve realizar a inspecção da carcaça para pesquisa de abscessos, tumores, cisticercose muscular generalizada ou sinais de artrite, tendo como resultado a rejeição total ou parcial da carcaça dependendo se a lesão é generalizada ou não. Quanto à inspecção de *Trichinella* spp., esta é efectuada na Indústria de carne, contudo, quando as carcaças são destinadas ao consumo particular, aquela deve ser realizada pelo MVO responsável pela montaria, informando os caçadores dos resultados antes do consumo da carne. Posteriormente, as carcaças aptas para consumo são marcadas pelo MVO com uma fita verde (*precinto* oficial verde), assim como as rejeitadas, não aptas para consumo, são marcadas com

uma fita vermelha (*precinto* oficial *rojo*) e devidamente eliminadas. O MVO também passa um certificado sanitário que acompanha a carcaça à Indústria de caça no caso de que esta seja para consumo particular. Por último, introduzem-se as carcaças de caça aptas para o consumo no veículo de transporte refrigerado, com temperatura inferior a 7°C, no caso da caça maior. É necessário realçar a importância da inspecção veterinária da carne de caça e o passo marcante em relação à Segurança Alimentar que a legislação *extremeña* deu comparativamente à europeia, ao assegurar que esta inspecção é realizada sempre por parte de um Médico Veterinário, já que se tratam de animais que durante a sua vida não foram submetidos a nenhum controlo sanitário, embora sendo uma das produções com maior risco de zoonoses alimentares. De seguida, será descrito todo o processo de inspecção efectuado dentro da Indústria de carne de caça maior. O principal objectivo da visita à referida Indústria foi conhecer as actividades efectuadas pelo Médico Veterinário a este nível. Assim, em primeiro lugar dá-se a chegada do camião das carcaças de caça já evisceradas, com um *precinto* verde (as de *precinto rojo* não podem chegar à indústria) que lhe foi colocada no local onde se realizou a montaria, com um certificado que inclui a identificação das peças, a sua procedência, o seu destino e, ainda, um certificado que comprova que se fez a inspecção veterinária. Depois da chegada das carcaças à Indústria, normalmente durante os fins-de-semana, pois é quando se realizam as montarias, estas são armazenadas em refrigeração a uma temperatura inferior a 7°C até terça-feira, altura em que se começa a esfolar. No caso do javali, antes de se começar a processar a carcaça, deve-se realizar o diagnóstico de *Trichinella* spp., que é efectuado de acordo com o Regulamento (CE) 2075/2005. Durante as duas visitas à Indústria de caça (num total de 12 horas), prestámos auxílio ao Médico Veterinário no diagnóstico de *Trichinella* spp., analisando um total de 75 animais, todos eles negativos. Estes animais, como referido anteriormente, entraram no estudo de prevalências deste trabalho de investigação. A realização da esfolagem é efectuada colocando-se vários operários em fila, indo estes eliminando a pele do animal. Quando a pele é totalmente removida, procede-se à lavagem da carcaça com água. Seguidamente, realiza-se a inspecção veterinária de todas as carcaças na procura de doenças infecciosas como a Tuberculose ou a Cisticercose muscular. É de certa forma lógico pensar que a inspecção das carnes de caça não pode ser tão meticulosa comparativamente ao acto de inspecção que é realizado em matadouro; isto porque a forma de abate, através de um projectil, pode romper o estômago e/ou o intestino e disseminar todo o conteúdo gástrico e/ou fecal com consequente contaminação microbiana. De seguida, as carcaças aptas passam para uma câmara de refrigeração onde permanecem até que se inicie o corte. Ao tratar-se de uma Indústria de pequeno tamanho, o corte baseia-se na obtenção das peças mais nobres e a restante carne é picada para venda como carne de caça magra. Todas estas peças são embaladas em vácuo antes do armazenamento em congelação ou refrigeração. A maioria das peças nobres é exportada para a Alemanha e comercializada congelada. Na época em que não há montarias, uma parte desta carne é utilizada para a elaboração de enchidos. Por

último, referenciamos os livros de registo e controlo que a Indústria em causa possuía na altura da nossa visita, sendo eles os seguintes: o plano de análise de pontos críticos onde a maioria das etapas eram pontos críticos de controlo o que significa que é impossível efectuar uma monitorização correcta e portanto o plano resulta inadequado; a verificação do plano de pontos críticos através de análises microbiológicas, e dos registos das temperaturas das câmaras de refrigeração, congelação e túneis de congelação que ficam registadas e armazenadas por um termógrafo; o plano de controlo de pragas; o plano de limpeza, sendo esta realizada ao final do dia de trabalho; o plano de rastreabilidade, realizado por semanas, o que pressupõe que o surgimento de um problema pontual em algum dos produtos causaria a retirada do mercado dos produtos produzidos numa semana; a recolha de subprodutos, efectuada por uma empresa autorizada de gorduras e, por último, o livro de resumos da realização da digestão artificial péptica, que é de grande importância porque desse modo é assegurado que se efectuou o método oficial para o diagnóstico de *Trichinella* spp. de todos os animais que serão comercializados.

**Resumos dos trabalhos apresentados em Madrid (Espanha) nas VII Jornadas Complutenses, VI Congreso Nacional de Investigación para alumnos pregraduados en Ciencias de la Salud e XI Congreso de Ciencias Veterinarias y Biomédicas**

### **Prevalencia de *Balantidium coli* en el cerdo ibérico extremeño.**

**Marisa Neves. José Antonio Gamito-Santos. Rafael Calero-Bernal. Rubén Pascual-Franco.**

Área de Parasitología. Departamento de Sanidad Animal. Facultad de Veterinaria. Avda. de la Universidad s/n 10.071 Cáceres.

[marisa\\_neves\\_12@sapo.pt](mailto:marisa_neves_12@sapo.pt)

**David Reina Esojo. Eva María Frontera Carrión**

Área de Parasitología. Departamento de Sanidad Animal. Facultad de Veterinaria. Avda. de la Universidad s/n 10.071 Cáceres.

[dreina@unex.es](mailto:dreina@unex.es). [evamariafrontera@gmail.com](mailto:evamariafrontera@gmail.com)

**Resumen:** La balantidiosis es una enfermedad parasitaria producida por el protozoo ciliado *Balantidium coli*. Es una zoonosis adquirida por vía orofecal, através de su hospedador habitual, el cerdo, donde suele comportarse como comensal apatógeno, si bien puede convertirse en un parásito oportunista ante situaciones de inmunodepresión. Recientemente, ha comenzado a ser catalogado como un patógeno emergente. Se ha realizado un estudio de la parasitofauna del cerdo ibérico, chequeando un total de 31 explotaciones porcinas de Extremadura. Su diagnóstico se ha realizado por técnicas de sedimentación sobre muestras coprológicas obtenidas al azar de los diferentes lotes de cerdos. En total se han analizado 52 muestras según las distintas fases productivas, con una media de 25 cerdos por lote en reproducción, 196 cerdos en recría y 128

cerdos en fase de engorde. La prevalencia de *B. coli* por explotación fue del 96,8%. En función de la fase productiva, se encontró una prevalencia del 83,3% en reproductores, un 96% en cerdos de engorde, un 87,5% en cría y un 71,4% en lechones. En función del sistema de producción, la prevalencia fue del 90% en extensivo, un 66,7% en semiextensivo y un 75% en intensivo. También se analizaron muestras de 85 cerdos, obtenidas *post mortem* en matadero, en las que se obtuvo una prevalencia del 87,1%. Todas estas prevalencias indican una alta presencia del parásito en el ciclo productivo del cerdo ibérico en Extremadura, sin alterar aparentemente la producción porcina, siempre que el estatus sanitario de los cerdos fuera el correcto.

**Palabras clave:** Balantidiosis, prevalencia, porcino, zoonosis.

## **Estudio comparativo de la parasitofauna del cerdo ibérico en Extremadura entre 1999 y la actualidad.**

**Marisa Neves. José Antonio Gamito-Santos. Rafael Calero-Bernal. Rubén Pascual-Franco.**

Área de Parasitología. Departamento de Sanidad Animal. Facultad de Veterinaria. Avda. de la Universidad s/n 10071 Cáceres.

[marisa\\_neves\\_12@sapo.pt](mailto:marisa_neves_12@sapo.pt)

**David Reina Esojo. Eva María Frontera Carrión**

Área de Parasitología. Departamento de Sanidad Animal. Facultad de Veterinaria. Avda. de la Universidad s/n 10071 Cáceres.

[dreina@unex.es](mailto:dreina@unex.es). [evamariafrontera@gmail.com](mailto:evamariafrontera@gmail.com)

**Resumen:** El porcino ibérico se erige en Extremadura como uno de los principales motores del sector ganadero, siendo una importante base económica regional. En el presente estudio de parasitofauna del cerdo ibérico, el principal objetivo es conocer las prevalencias actuales de algunos parásitos zoonóticos, por su interés en Salud Pública, y no zoonóticos, por su importancia en la producción animal, y comparar la situación actual con los datos obtenidos en un estudio homólogo de 1999. Para ello, se tomaron muestras coprológicas en 31 explotaciones porcinas extremeñas y en cerdos sacrificados en mataderos, tras lo cual se realizaron análisis cualitativos mediante flotación y sedimentación. Además, también se tomaron 140 muestras de corazón, realizando digestión trípica en busca de *Sarcocystis* spp., y 140 muestras de tejido muscular diafragmático, para realizar digestión artificial péptica en busca de *Trichinella* spp. Así, de los animales muestreados en mataderos, se han encontrado unas prevalencias del 92,9% para *Sarcocystis* spp.; 87,1% para *Balantidium coli*; 62,3% para *Eimeridae* spp.; 51,5% para *Metastrongylus* spp.; 27,1% para *Trichuris suis*; 9,4% para nematodos de la Suborden

*Strongylida*; 8,2% para *Ascaris suum* y 0% para *Trichinella* spp. Por otro lado, en las muestras procedentes de 31 explotaciones porcinas, se han encontrado prevalencias del: 96,8% para *B. coli*; 77,4% para *Eimeridae* spp.; 74,2% para nematodos de la Suborden *Strongylida*; 35,5% para *Metastrongylus* spp.; 32,3% para *Trichuris suis* y 22,6% para *Ascaris suum*. Las prevalencias observadas son, en general, superiores a las obtenidas en 1999, como es el caso de *Sarcocystis* spp. (62,2%), *Metastrongylus* spp. (23,94%), *Eimeridae* spp. (35%) y *Trichuris suis* (5,4%).

**Palabras clave:** Parasitofauna, porcino, prevalencia, zoonosis.

**Artigo na revista *Caza Mayor*: Claves para combatir la ‘triquinosis’.**



**PREVALÊNCIA DE *BALANTIDIUM COLI* EM SUÍNOS DA RAÇA IBÉRICA DA EXTREMADURA E CASTELA E LEÃO, ESPANHA**

**Neves, M.<sup>1</sup>, Gamito-Santos, J.A.<sup>2</sup>, Calero-Bernal, R.<sup>2</sup>, Pascual-Franco, R.<sup>2</sup>, Madeira de Carvalho<sup>1</sup>, L.M., Reina Esojo<sup>2</sup>, D. Frontera Carrión<sup>2</sup>, E.F.**

1.CIISA, FacMedVet, UnivTecn Lisboa, Av. da Universidade Técnica de Lisboa, 1300-477 Lisboa, Portugal, [marisa\\_neves\\_12@sapo.pt](mailto:marisa_neves_12@sapo.pt); 2.Área de Parasitología. Departamento de Sanidad Animal. Facultad de Veterinaria. Avda. de la Universidad s/n 10071 Cáceres.

**Introdução:** A balantidiose é uma doença parasitária produzida pelo protozoário ciliado *Balantidium coli*. É uma zoonose adquirida por via orofecal, pelo seu hospedeiro habitual, o suíno, originando geralmente um quadro assintomático. A transmissão humano-humano também pode ocorrer. A água e os legumes contaminados com purinas são as fontes de contágio mais frequentes em países desenvolvidos, enquanto em países tropicais são as condições de não potabilidade, pobre higiene e má nutrição. *B. coli*, normalmente, comporta-se como um comensal apatogénico, tanto no suíno como no homem, mas pode converter-se num parasita oportunista em pacientes imunodeprimidos que vivem em imediações urbanas, onde os suínos não são um factor de infecção. Tem um ciclo de vida directo que apresenta duas fases: o trofozoito e o quisto, que é o estadio infectante. As investigações sobre *B. coli* têm sido escassas, mas recentemente é considerado como um protozoário patogénico emergente (Garcia, 2008).

**Material e métodos:** Foi realizado um estudo, entre Novembro de 2011 e Abril de 2012, para conhecer a parasitofauna dos suínos da raça ibérica pertencentes a um total de 55 explorações das Comunidades Autónomas da Extremadura e Castela e Leão. Recolheram-se amostras coprológicas dos diferentes lotes de produção presentes em cada exploração (reprodutores, leitões, recria e engorda). Também se analisaram 100 suínos sacrificados em matadouro. As amostras coprológicas obtiveram-se directamente do intestino de cada suíno. Posteriormente, as amostras procedentes das explorações e de matadouro foram analisadas mediante técnicas coprológicas. Concretamente, para o diagnóstico de *B. coli*, utilizou-se o método qualitativo de sedimentação.

**Resultados:** Para o conhecimento da parasitofauna do porco ibérico por lotes e sistemas de produção, foram estudados 87 lotes, dos quais 33 (37,93%) eram de montanha, 17 (19,54%) de reprodutores, 16 (18,39%) de engorda, 12 (13,79%) de recria e 9 (10,34%) de cria e, 57 (65,52%) desses lotes eram procedentes de sistema extensivo, 19 (21,84%) de intensivo e 11 (12,64%) de semi-extensivo. Obteve-se uma prevalência total por exploração de 94,5%. Em função da fase produtiva, encontrou-se uma prevalência de 100% em lotes de reprodutores (17



lotes); 100% em suínos de engorda (16 lotes); um 96,9% em lotes de montanha (32 de 33 lotes positivos); um 66,7% na cria (6 em 9 lotes) e 91,7% na recria (11 em 12 lotes). Em função do sistema de produção, encontramos um 93,9% em extensivo (45 em 48 sistemas); um 88,9% em intensivo (8 em 9 sistemas) e 92,9% em semiextensivo (13 em 14). Das 100 amostras fecais provenientes de animais sacrificados em matadouro obteve-se 89% de prevalência. Estas elevadas prevalências indicam uma alta presença do parasita no ciclo produtivo dos suínos de raça ibérica na Estremadura e Castela e Leão (Espanha), comportando-se este agente como um comensal na produção suína, sempre que o estado sanitário dos animais seja o correcto.

**Conclusões:** *B. coli* é o único protozoário ciliado conhecido por infectar humanos. É uma zoonose de carácter profissional, que afecta principalmente tratadores de suínos e pessoas que trabalham em matadouros em condições higiénicas deficientes (sem luvas na evisceração, por exemplo). A sua introdução numa exploração costuma ocorrer por suínos portadores assintomáticos, mas também pode intervir o homem, cães, gatos, ratazanas, ratos, etc. Para além disso, os quistos são formas muito resistentes, que podem sobreviver na água durante vários dias e no estrume sólido e húmido durante várias semanas. É importante evitar que os animais recebam uma alimentação defeituosa, que sofram stress, outras doenças, etc., já que a balantidiose costuma manifestar-se secundariamente ao mau manejo dos animais. Assim, requerem-se medidas de higiene de rotina para prevenir a ingestão de quistos na água ou comida contaminada. É aconselhável a desinfecção dos locais com desinfectantes à base de amónia ou outros produtos capazes de destruir os quistos de *B. coli*.

**Referências bibliográficas:** Garcia, L. S. 2008. *Balantidium coli*. In N. A. Khan (ed.), Emerging protozoan pathogens. Taylor & Francis, New York, NY.

## **ESTUDO COMPARATIVO DA PARASITOFUNA DOS SUÍNOS DE RAÇA IBÉRICA DA ESTREMADURA E CASTELA E LEÃO (ESPANHA) ENTRE 1999 E A ACTUALIDADE**

**Neves, M.<sup>1</sup>, Gamito-Santos, J.A.<sup>2</sup>, Calero-Bernal, R.<sup>2</sup>, Pascual-Franco, R.<sup>2</sup>, Madeira de Carvalho<sup>1</sup>, L.M., Reina Esojo<sup>2</sup>, D. Frontera Carrión<sup>2</sup>, E.F.**

1.CIISA, FacMedVet, UnivTecn Lisboa, Av. da Universidade Técnica de Lisboa, 1300-477 Lisboa, Portugal, marisa\_neves\_12@sapo.pt ; 2.Área de Parasitología. Departamento de Sanidad Animal. Facultad de Veterinaria. Avda. de la Universidad s/n 10071 Cáceres.

**Introdução:** Os suínos da raça ibérica destacam-se na Estremadura como um dos principais motores do sector pecuário, sendo uma importante base económica regional. São uma espécie valiosa na produção de carne para o consumo humano, e a rentabilidade da sua produção



depende do grau de eficiência da mesma. As doenças parasitárias podem conduzir a perdas bastante significativas nos principais indicadores de eficiência produtiva. Deste modo, surge a importância em contribuir ao conhecimento do *status* sanitário do porco ibérico, raça também presente em Portugal, conhecida como porco preto alentejano, e também devido ao facto de que Portugal é um dos países da UE comprador dos seus produtos. Assim, é realmente interessante conhecer as prevalências actuais dos parasitas do porco ibérico, quer zoonóticos, pela sua importância em Saúde Pública, quer não zoonóticos, pela sua importância em Sanidade Animal, e desta forma tentar perceber a evolução das prevalências desde o último estudo homólogo de 1999, realizado sob condições ecológicas semelhantes à da presente investigação.

**Material e métodos:** Foi realizado um estudo, entre Novembro de 2011 e Abril de 2012, para conhecer a parasitofauna dos suínos da raça ibérica pertencentes às Comunidades Autónomas da Estremadura e Castela e Leão e comparar com o estudo homólogo realizado em 1999. Para tal, tomaram-se amostras coprológicas em 55 explorações e de 100 suínos sacrificados em matadouro, que foram analisadas mediante análises qualitativas, nomeadamente flutuação e sedimentação. Para além disso, também se tomaram 140 amostras de tecido muscular diafragmático para o diagnóstico de *Trichinella* spp. pelo método oficial de digestão péptica (Regulamento (CE) 2075/2005) e 110 corações, para o diagnóstico de *Sarcocystis* spp. pelo método de Erber modificado por Serrano *et al.*, (2010). Realizou-se um inquérito de exploração sobre factores de risco, com 38 perguntas sobre dados relativos ao proprietário, à exploração pecuária e efectivo animal, à gestão, à biossegurança e ao plano sanitário.

**Resultados:** Relativamente aos animais analisados em matadouro, encontraram-se prevalências de 90,9% para *Sarcocystis* spp.; 89% para *Balantidium coli*; 67% para a Família *Eimeriidae*; 25% para *Metastrongylus* spp.; 24% para *Trichuris suis*; 8% para nematodos da Subordem *Strongylida*; 7% para *Ascaris suum* e 0% para *Trichinella* spp. Por outro lado, para as amostras procedentes de 55 explorações suínas, encontraram-se prevalências de: 94,5% para *B. coli*; 65,5% para nematodos da Subordem *Strongylida*; 56,4% para a Família *Eimeriidae*; 23,6% para *Metastrongylus* spp.; 18,2% para *Trichuris suis* e 12,7% para *Ascaris suum*. As prevalências observadas são, em geral, superiores às obtidas em 1999, como é o caso de *Sarcocystis* spp. (62,2%), Família *Eimeriidae* (35%) e *Trichuris suis* (5,4%) (García-Vallejo, 1999). Segundo os dados obtidos nos 49 inquéritos de exploração efectuados, 39 dessas explorações (69,6%) puderam ter contacto com javalis, constatado reservatório de parasitas para os suínos de raça ibérica produzidos em sistema extensivo; em 29 delas (25%) não são aplicados tratamentos antiparasitários; em 42 delas (87,5%) não se aplicam planos de limpeza e desinfecção nem controlo de pragas e 47 delas (96,4%) não têm controlo de insectos; por último, 42 explorações (75%) declaram a presença de cães e/ou gatos, sendo estes factores de extrema importância para a presença de parasitas de carácter zoonótico nos suínos de raça ibérica na Estremadura (Espanha).

**Conclusões:** O estudo da parasitofauna dos suínos de raça ibérica da Extremadura e Castela e Leão (Espanha) revela a presença de uma alta prevalência de parasitas protozoários, *Sarcocystis* spp., *Balantidium coli* e Família *Eimeriidae*, com valores que rondam os 90% para os dois primeiros e, no caso do segundo grupo, 60% na análise por explorações e 35% no que respeita ao estudo *postmortem*; e uma moderada-baixa presença de nematodos, *Metastrongylus* spp., *Trichuris suis*, *Ascaris suis*, com a excepção da Subordem *Strongylida*, com mais de 50% de positividade na análise *antemortem*. Ao compararmos as prevalências globais do nosso estudo com o homólogo de 1999, encontramos, em linhas gerais, uma maior prevalência de parasitas na actualidade, com a excepção de *Ascaris suum*.

Este aumento de parasitação poderia dever-se à situação de crise económica que afecta também o sector pecuário e que leva os produtores a desvalorizar os custos de produção diminuindo as medidas preventivas, nomeadamente os programas de desparasitação e as medidas básicas de biossegurança.

**Referências bibliográficas:** García Vallejo, T. B. 1999. Endoparasitoses del porcino ibérico en Extremadura (España): epidemiología y control. Tesis doctoral. Universidade de Extremadura. Facultad de Veterinaria. Departamento de Sanidad Animal. Área de Parasitología y Enfermedades Parasitarias. Cáceres. España. Regulamento (CE) nº 2075/2005 da Comissão de 5 de Dezembro de 2005, que estabelece normas específicas para os controlos oficiais da presença de triquinias na carne. Serrano Aguilera, F. J. 2010. Manual práctico de parasitología veterinaria. Ed. Universidad de Extremadura. Cáceres. España.

## Anexo 2. Relatório dos resultados coprológicos

**INFORME:** resultados coprológicos

**Nº MUESTRA:**

**PROCEDENCIA:**

**FECHA:**

LOTE	RAZA	RESULTADOS ANALISIS COPROLOGICO
		<u>Cualitativo:</u>  <u>Cuantitativo:</u>
		<u>Cualitativo:</u>  <u>Cuantitativo:</u>
		<u>Cualitativo:</u>  <u>Cuantitativo:</u>
		<u>Cualitativo:</u>  <u>Cuantitativo:</u>

Muchas gracias por su atención.

Atenciosamente,

Marisa Neves.

## Anexo 3. Inquérito de exploração

### Encuesta de explotación

Nombre de la finca:

Fecha de muestreo:

#### I – Datos relativos al propietario/gestor

- 1) Grupo de edad:
- 2) Títulos académicos:
- 3) Años dedicados a la producción de porcino Ibérico:

---

#### II – Datos relativos a la explotación y censo porcino Ibérico

- 4) Municipio de la explotación:
- 5) Superficie de la explotación. Área dedicada a la producción de porcino Ibérico.
- 6) ¿Se han visto jabalíes en la explotación? ¿Recientemente?
- 7) Fases de producción existentes en la explotación, censo y sistema de explotación:

		Censo		Sistema
Fase		2007	2012	
Reproductores				
Recría				
Engorde				

- 8) Alteraciones de los animales (Señale con X la opción pretendida y adelante diga cual es la fase etaria en que observan las alteraciones señaladas)

Fase etaria		
Adelgazamiento		
Diarrea aguda/crónica		
Toses/neumonía		
Abortos		
Muertes. ¿Cuántas?		
Otras. ¿Cuáles?		

- 8.1) ¿Desde cuándo se observan?

---

#### III – Profilaxis

- 9) ¿El efectivo está desparasitado? Producto/os. Frecuencia.
- 10) ¿Cuándo se efectúa la desparasitación? (Ej. Entrada de animales nuevos, en primavera, etc.).
- 11) ¿Se realiza validación de la eficacia del tratamiento? ¿como?

12) ¿Se vacuna el efectivo? (señale con X la opción pretendida)

Aujeszky		Clostridiosis	
Parvovirus		Pasteurelosis	
Mal Rojo		Circovirus	
Colibacilosis		Otra. ¿Cuál?	

-----  
-----  
**IV – Bioseguridad**

13) ¿Hay vallados en la explotación? Se si, de que tipo (simples, dobles, de piedra)? Tienen perforaciones?

14) ¿Hay fauna cinegética? ¿Coto deportivo o privado?

15) ¿Cuántas entradas y salidas hay en la explotación?

16) ¿Hay vado sanitario en la entrada de la explotación? ¿Tiene desinfectante?

17) ¿Hay instalaciones propias para los trabajadores o visitantes ocasionales?

18) ¿Hay silos en la explotación? ¿cerca de la entrada?

19) La zona de carga y descarga de animales, ¿está cerca de la entrada?

20) Los visitantes, ¿se cambian de ropa cuando llegan a la explotación? ¿donde?

21) Los terrenos, ¿drenan con facilidad?

22) Los animales, ¿disponen de refugios? ¿de qué tipo?

23) ¿Hay cercas/instalaciones de cubricion y de parto? Si son cercas, ¿vallado simples o doble?

24) Las cercas/instalaciones, después de su uso, ¿se limpian y desinfectan?

25) ¿Hay cercas/ instalaciones de cuarentena y aislamiento sanitario? Existe lazareto? ¿Se efectúa cuarentena? Duración.

25.1) Si la respuesta anterior ha sido “Si”, esas cercas/ instalaciones son/estan (Señale con X la/las opcion/ones pretendida/as)

Simples	
Dobles	
Lejos de las cercas de producción	
Limpias	
Compuestas por tejados y muros de protección	

26) ¿Que área/superficie tienen las zonas de pastoreo? ¿Fueron recientemente pastadas?

27) ¿Se explotan otras especies? ¿cuáles?

28) ¿Se comparten las zonas de pastoreo? ¿Con qué especie?

29) ¿Se pastorean zonas con cursos de agua y/o áreas encharcadas?

30) ¿Hay rotación de pastos?

31) ¿Los establos son adecuados, limpios y secos?

32) ¿Que superficie tiene cada instalación donde estan los animales?

33) ¿Se realizan vacios sanitarios? ¿cuantas veces al año?

34) Los establos tienen (Señale con X la/las opcion/nes pretendida/as):

Orientación correcta	
Sistemas de cierre adecuados	
Extractores de aire	
Ventanas con telas mosquiteras	
Paredes y tejados que aseguran el aislamiento térmico	

35) Los suelos de los establos son constituídos por (Señale con X la/las opción/ones pretendida/as):

Materiales resistentes	
Materiales de fácil limpieza (SLAT)	
Inclinación adecuada (0,5 a 1,5%)	

36) Los colectores de drenaje de efluentes, ¿tienen cerramiento seguro?

37) Existe un plan de (Señale con X la/las opción/ones pretendida/as):

Limpieza y desinfección	
Control de insectos	
Prevención para roedores	

38) ¿Existen perros y/o gatos en la explotación? Se “si”, los perros y/o gatos ¿entran en las instalaciones de producción? ¿Son desparasitados, vacunados o ambos? ¿Con qué frecuencia?

## **Anexo 4. Protótipo racial do porco Ibérico**

### **Prototipo racial del cerdo Ibérico.**

Aspecto general: Animales de tamaño medio, perfil fronto-nasal subcóncavo, de proporciones medias o ligeramente alargadas y pigmentación oscura. En su conjunto aparecen como ejemplares armónicos, con osamenta ligera, vivos y de movimientos fáciles y sueltos, con caracteres marcados propios del sexo a que pertenecen.

Color y pelo: Piel siempre pigmentada. Decoloración variable entre el negro intenso y el colorado, siendo la expresión más típica de éste el color retinto. Pelo débil, no abundante, del mismo color que la piel. Pueden admitirse excepciones de decoloración (ejemplares canos) más o menos uniformes o circunscritos a áreas concretas (ejemplares manchados).

Cabeza y cuello: De tamaño medio, ligeramente larga con perfil frontonasal subcóncavo. Frente proporcionada. Orbitas oblicuas. Ojos grandes, vivos y de pupilas pigmentadas. Cara no muy ancha. Hocico fuerte y alargado, con rodete vertical. Orejas de tamaño medio, dirigidas hacia delante y abajo, permitiendo una perfecta visión. Cuello corto, bien unido a la cabeza con el tronco, provisto de papada poco desarrollada. Puede portar mamellas.

Tórax: Fuerte, con costillas arqueadas y no demasiado profundo, que contribuye a un tronco bien desarrollado.

Espaldas: Largas, ligeramente inclinadas y de musculatura manifiesta.

Dorso y lomos: Rectos, horizontales y musculados. La línea dorsolumbar o perfil superior del tronco aparecerá como prolongación insensible de una cruz ancha para terminar suavemente en la grupa.

Grupa y jamones: Grupa larga, ancha, algo caída y musculada, con nacimiento de la cola alto. Jamones largos, descendidos y llenos.

Ventre y genitales: Ventre proporcionado, con signos de franco desarrollo. Línea inferior recta o débilmente combada, con un mínimo de 5/5 pezones normales desarrollados, de implantación amplia y regularmente espaciados. Excepcionalmente podrán admitirse ejemplares de menos de 10 pezones, siempre que su calificación sea APTO. Testículos bien desarrollados, simétricos en longitud y tamaño. Vulva manifiestamente desarrollada.

Extremidades y marcha: Extremidades finas y, sin embargo, resistentes, con articulaciones limpias y perfectamente definidas. Cuartillas no muy largas, fuertes y elásticas. Pezuñas fuertes y duras, de coloración uniforme. En ocasiones con áreas despigmentadas. Aplomos correctos. Marcha viva, en línea recta, libre y sin claudicaciones, entorpecimientos o envaramientos.

Defectos descalificables:

- a. Alteraciones intensas en las características que proporcionan el aspecto general.
- b. Las manchas blancas de la piel, a excepción de cierta mancha blanca en el rodete de la jeta que se presenta en algunos ejemplares.
- c. Prognatismo acusado.
- d. Orejas erguidas.
- e. Hernias.
- f. Criptorquidia o monorquidia.
- g. Infantilismo genital en las hembras.



Se consideran defectos objetables: La decoloración total o parcial de las pupilas, o coloración azul bilateral o unilateral e incluso fraccionada a áreas de un mismo ojo.

Calificación morfológica: Se realizará por el método de puntos y mediante apreciación visual de los ejemplares, recaerá en las regiones corporales de mayor significación étnica y productiva, cuyas características han sido señaladas en el prototipo racial. Los caracteres objeto de apreciación serán estimados con una puntuación de 0 a 10. La adjudicación de menos de 4 puntos a cualquiera de las regiones valorables será causa de descalificación total del ejemplar, con independencia del valor obtenido para las regiones restantes. Los caracteres a considerar y coeficiente ponderativo que se aplicará a las diferentes regiones estimadas son las que recoge el cuadro siguiente:

Carácter	Coeficiente
Aspecto general (desarrollo, proporciones y peso)	1,50
Piel y pelo; pigmentación	0,50
Cabeza y cuello	0,50
Tórax	0,70
Espaldas	1,00
Dorso y lomos	2,00
Grupa y jamones	2,40
Ventre y genitales	0,70
Extremidades y marcha	0,70
Total	10,00

Conocida la puntuación, los ejemplares quedarán calificados con las siguientes denominaciones:

**Machos:**

**Aptos:** Los animales que obtengan una puntuación igual o superior a 65 puntos.

**No aptos:** Los animales que obtengan una puntuación inferior a 65 puntos.

**Hembras:**

**Aptos:** Los animales que obtengan una puntuación igual o superior a 60 puntos.

**No Aptos:** Los animales que obtengan una puntuación inferior a 60 puntos.

## **Anexo 5. Protótipo racial dos machos de raça Duroc**

### **Prototipo racial de machos de raza Duroc**

Conformación: Correcta, con osamenta adecuada.

Piel y pelo: Rojos, aunque pueden tener fluctuaciones desde el dorado hasta el rojo ladrillo. Pelo liso y abundante.

Cabeza y cuello:

Cabeza: Relativamente pequeña, con perfil cóncavo y ojos muy vivos.

Orejas: De media longitud. Ligeras y caídas con las puntas hacia abajo sin entorpecer la visión.

Cuello: Corto con limpia inserción con el tronco.

Tercio anterior: Espalda ancha, bien desarrollada y con correcta unión con el tronco, destacándose su conformación anatómica.

Tronco:

Dorso: Ancho, bien musculado, convexo, pudiendo ser recto en animales muy conformados, sobre todo si son jóvenes.

Lomo: De perfil convexo, ancho, largo, muy musculado y más prominente en el punto medio de su longitud.

Tórax: De gran profundidad y anchura, con costillas compactas y bien insertadas.

Abdomen: Recogido, con línea inferior recta.

Tercio posterior:

Grupa: Larga y ancha con perfil convexo, descendente hacia la cola.

Nalgas y muslos (jamones): Llenos, compactos y redondeados, descendentes hasta los corvejones.

Cola: Correctamente implantada y no muy alta.

Genitales: Testículos bien situados y desarrollados, y prepucio más desarrollado que en otras razas.

Extremidades: Largas, fuertes, anchas, robustas y bien aplomadas, apoyándose sobre las puntas de las pezuñas.

Calificación morfológica: Se realizará mediante apreciación visual, por el método de puntos, y se basará en el prototipo racial señalado anteriormente.

Cada carácter a calificar será puntuado entre 1 y 10

La asignación de cuatro puntos o menos a cualquiera de las regiones descalificará al animal, sin que se tenga en cuenta la conseguida en las restantes.

A las puntuaciones asignadas se aplicarán los siguientes coeficientes ponderativos:

Carácter	Coeficiente
Aspecto general (desarrollo, proporciones y peso)	1,50
Color (piel y pelo)	0,50
Cabeza y cuello (tamaño, perfil, inserción)	0,50
Dorso y lomos (longitud, anchura, perfil)	2,00
Espalda y tórax (amplitud, inserción, anchura, profundidad)	1,00
Grupa, nalgas y muslos (jamón) (longitud, anchura, dirección, descenso)	2,50
Vientre y caracteres sexuales	1,0
Extremidades y aplomos	1,0
Total	10,00

Obtenida la puntuación correspondiente, el animal quedará calificado con las siguientes denominaciones:

Machos aptos: los animales que obtengan una puntuación igual o superior a 60 puntos.

Machos no aptos: los animales que obtengan una puntuación inferior a 60 puntos.

## **Anexo 6. Designação do tipo de alimentação do porco Ibérico**

### **Designación del tipo de alimentación**

**Real Decreto 1469/2007**, de 2 de noviembre, por el que se aprueba la norma de calidad para la carne, el jamón, la paleta y la caña de lomo ibéricos.

#### **1. De bellota o terminado en montanera.**

1. El peso medio de entrada en montanera de cada lote, estará comprendido entre 92 y 115 kilos.
2. Las fechas de entrada en montanera serán desde el 1 de octubre hasta el 15 de diciembre de cada año.
3. La reposición en montanera será como mínimo de 46 kilos durante una estancia mínima en la dehesa de 60 días.
4. El periodo de sacrificio estará comprendido entre el 15 de diciembre y el 15 de abril de cada campaña.
5. La edad mínima al sacrificio será de 14 meses.
6. El peso mínimo al sacrificio será de 117 kg como peso medio de las canales del lote y de 108 kg como peso mínimo individual por cada canal.
7. La carga ganadera total de la dehesa en ningún caso será mayor de 2 cerdos en montanera por hectárea.

#### **2. De cebo de campo.**

1. La edad mínima al sacrificio será de 12 meses.
2. El peso medio de entrada en la fase de cebo en campo, para cada lote, estará comprendido entre 92 y 115 kilos.
3. El peso mínimo al sacrificio será 117 kg como peso medio de las canales del lote y de 108 kg como peso mínimo individual por cada canal.
4. La fase final de cebo se realizará en campo, entendiéndose como tal al recinto cerrado no cementado en el que se ceban los cerdos y que, al menos, reúne las características siguientes:
  - a. Los comederos deberán estar separados de los bebederos una distancia superior a 100 metros.
  - b. La densidad máxima será de 15 cerdos por hectárea.

#### **3. De recebo o terminado en recebo.**

1. El peso medio de entrada en montanera de cada lote, estará comprendido entre 92 y 115 kilos.
2. Las fechas de entrada en montanera serán desde el 1 de octubre hasta el 15 de enero de cada campaña.

3. La reposicion en montanera sera como minimo de 29 kilos. Los animales deberán permanecer en la dehesa una estancia minima de 60 dias.
4. El periodo de sacrificio estara comprendido entre el 15 de diciembre y el 15 de mayo de cada campana.
5. La edad minima al sacrificio sera de 14 meses.
6. El peso minimo al sacrificio sera de 117 kg como peso medio de las canales del lote y de 108 kg como peso minimo individual por cada canal.

#### **4. De cebo.**

1. La edad minima al sacrificio sera de 10 meses.
2. El peso minimo al sacrificio sera de 117 kg como peso medio de las canales del lote y de 108 kg como peso minimo individual por cada canal.

## **Anexo 7. Técnicas coprológicas**

### **Análise qualitativa**

Os elementos de disseminação dos parasitas tais como os ovos, larvas e quistos (densidade entre 1,05 e 1,10), podem ser encontrados pela técnica de flutuação utilizando um líquido de maior densidade que eles; no entanto a densidade das soluções utilizadas não deve ser excessivamente alta para que os elementos parasitários não sejam deformados e também para que não flutuem outras partículas sólidas presentes nas fezes. A solução saturada de NaCl (densidade de 1,18) foi a utilizada neste trabalho de investigação. De forma resumida, a técnica de flutuação consiste em misturar uma pequena quantidade de fezes com a solução saturada de NaCl num frasco pequeno de paredes curvas; de seguida com uma pinça separam-se as fezes; junta-se solução suficiente para que se forme um menisco convexo na superfície do frasco; sobre o menisco coloca-se uma lamela; esperam-se 45 minutos, retira-se a lamela que é colocada sobre a lâmina; e, por último, observa-se com ampliação de 40x e 100x, com o diafragma fechado. Quanto à técnica de sedimentação, esta permite concentrar os elementos de disseminação existentes nas fezes por simples gravidade. Tem a vantagem de recuperar todos os ovos de helmintes, larvas de nematodos e quistos de protozoários, contudo, tem o inconveniente de consumir excessivo tempo. Resumidamente, misturam-se vários grama de fezes com água, num gobelé, até que a separação seja completa; passa-se a suspensão através de dupla gaze para um copo cónico de 500mL e enche-se de seguida com água até aproximadamente 2,5cm do bordo; de forma opcional, juntam-se duas ou três gotas de Azul de Metileno ou Verde de Malaquite, para corar os restos vegetais mas não os elementos de disseminação parasitários, o que facilita a sua observação ao microscópio; deixa-se repousar 30 ou 40 minutos; retira-se o sobrenadante até à marca de 100mL e volta-se a encher com água até ao mesmo nível; repete-se o procedimento até

que o sobrenadante permaneça mais ou menos transparente (o ideal é repetir três ou quatro vezes); para terminar o procedimento, elimina-se o sobrenadante e recolhem-se nove gotas do sedimento com uma pipeta de *Pasteur*, estas gotas são colocadas em lâminas (três em cada lâmina) e cobertas com lamelas; observam-se ao microscópio com a mesma ampliação referida para a flutuação, com o diafragma fechado.

### **Análise quantitativa**

Resumidamente, suspendem-se quatro grama de fezes em solução saturada de NaCl num volume final de 60mL; filtra-se a suspensão por uma gaze dupla para um gobelé, pressionando finalmente sobre a malha; agita-se suavemente a suspensão, para homogeneizá-la perfeitamente, com o objectivo de distribuir de forma uniforme os elementos de disseminação; enche-se imediatamente, com uma pipeta de *Pasteur*, os compartimentos da câmara de McMaster, evitando que se formem bolhas de ar; coloca-se a câmara no microscópio e deixa-se repousar durante 5 minutos para que os elementos parasitários flutuem e se acumulem na parte superior da câmara; focam-se as linhas com uma ampliação total de 100x (objectiva de 4x) e sem mover a câmara muda-se para a objectiva de 10x (ampliação total de 100x) e foca-se; como a suspensão de fezes está na relação de quatro grama em 60mL e se examina um volume total de 0,3mL, esta contagem equivale a 0,05grama de fezes, assim, a quantidade de elementos de disseminação por grama de fezes é a soma da contagem de ambos os compartimentos multiplicada por 50. A restante suspensão de fezes pode ser utilizada para encher os frascos pequenos de paredes rectas com uma pipeta de *Pasteur* e realizar a técnica de flutuação; isto permite simplificar a rotina de laboratório ao juntar os primeiros passos de ambos os métodos e também devido ao facto de se poder realizar em simultâneo as duas técnicas, com a consequente poupança de tempo; deste modo, a flutuação realizada desta forma é preferível, uma vez que se parte sempre da mesma quantidade de fezes e graças ao filtrado evita-se que alguma quantidade de fezes fique unida ao frasco ou que fiquem partículas grosseiras a flutuar e dificultem o exame ao microscópio.

### **Coprocultura ou incubação de fezes**

De forma resumida, as fezes são introduzidas numa placa de *Petri*, adicionam-se algumas gotas de água morna com uma pipeta de *Pasteur* para proporcionar humidade suficiente, bem como algumas gotas de dicromato de potássio a 2%, que para além de dar humidade ao meio, possui acção bactericida e fungicida; leva-se para uma estufa (20-25°C) durante sete a dez dias; controla-se a humidade e ventila-se a coprocultura todos os dias durante alguns minutos; passado esse tempo, as fezes colocam-se no aparelho de Baermann para o isolamento das larvas e sua posterior identificação.

## **Método de Baermann para isolamento de larvas de Nematodos nas fezes**

Primeiramente, monta-se o aparelho de Baermann, composto pelo suporte metálico, tubo de borracha e pinça. O funil colocado no aparelho enche-se de água morna e sobre esta é depositada a amostra, sobre dupla gaze e tamiz, de maneira a que se produza um contacto suave entre as fezes e a água. As larvas são muito activas e apresentam hidrotropismo positivo, migrando das fezes e sedimentando-se no fundo do tubo de borracha ligado ao funil; a partir de três a seis horas, sendo o tempo máximo necessário de 12 a 24 horas, depositam-se numa placa de *Petri* as primeiras gotas do sedimento, examinando-se ao estereomicroscópio; com uma pipeta de *Pasteur* recolhem-se algumas larvas, sendo estas colocadas entre lâmina e lamela e posteriormente analisadas ao microscópio óptico; a amostra objecto de análise pode ser misturada com uma ou duas gotas de lugol para fixar as larvas e ser mais fácil a sua identificação.

## **Anexo 8. Exame de tecido muscular**

### **Método para o diagnóstico de *Trichinella* spp.**

Resumidamente, segundo o Regulamento (CE) 2075/2005, este método baseia-se numa digestão em agitador magnético, sendo este colocado num copo de precipitado com as seguintes proporções de reactivos para 100 grama de carne:

- dois litros de água a 46-48°C;
- 10 grama de pepsina de 2000 U/g;
- 16 mL de ácido clorídrico a 25%.

O copo de precipitado permanece no agitador magnético 30 minutos; posteriormente, filtra-se o líquido de digestão através de um tamiz (malha de 180µm de diâmetro de poro e diâmetro exterior de 11cm) colocado sobre um funil de decantação; passados outros 30 minutos, abre-se a torneira do funil de decantação, deixando-se passar 40mL a outro funil de decantação, de menor tamanho; deixa-se precipitar durante 10 minutos; seguidamente, retiram-se 30 mL de sobrenadante com uma seringa de 10mL; abre-se novamente a torneira do segundo funil de decantação, deixando-se passar os restantes 10mL de sedimento para uma placa de *Petri* e, por último, este funil de decantação é enxaguado com 10mL de água que é adicionada à placa de *Petri* que contém o sedimento; o filtrado observa-se ao estereomicroscópio com um aumento de 15 a 20 vezes.

A legislação, segundo o Regulamento (CE) 2075/2005, estabelece que se devem analisar entre uma a cinco grama de tecido muscular por suíno sacrificado, segundo o sistema de produção (intensivo e extensivo, respectivamente) e, no caso dos javalis, devem-se digerir cinco grama por animal, sendo o músculo de eleição os pilares do diafragma. Na presente investigação,

analisamos, por indivíduo, 5 grama de pilares de diafragma, no caso do porco doméstico, e 15-20 grama do mesmo músculo em javalis.

### **Método para o diagnóstico de *Sarcocystis* spp.**

De forma resumida, a amostra, que corresponde ao vértice do coração, é colocada na picadora eléctrica e triturada; seguidamente, pesam-se cinco grama dessa amostra de tecido muscular cardíaco; pesam-se 0,13grama de tripsina e mede-se 50mL de PBS; colocam-se estes três componentes num recipiente com tampa onde se homogeneízam adequadamente; incuba-se à temperatura ambiente, que ronde os 22°C, durante oito minutos, agitando-se, manualmente, dois ou três vezes durante esse período; seguidamente, filtra-se o conteúdo da digestão em dupla gaze e funil, passando o filtrado para um tubo de centrifuga de 50mL com tampa (pressiona-se a gaze depois do líquido ser filtrado para aumentar o número de possíveis quistos de *Sarcocystis* spp.); o líquido de digestão resultante do filtrado centrifuga-se a 1000rpm durante 10 minutos a uma temperatura entre 1 e 3°C para deter a digestão da amostra uma vez que os quistos são muito lábeis e rompem-se com facilidade; por último, elimina-se o sobrenadante e retiram-se algumas gotas, no mínimo 9 gotas, com uma pipeta de *Pasteur*, colocando-as entre lâmina e lamela; observam-se ao microscópio óptico com ampliação total de 40x ou 100x, com o diafragma fechado, procurando-se os quistos completos, septados ou os zoítos livres.

## **Anexo 9. Protocolo da técnica *nested* PCR**

### **Preparação e digestão dos linfonodos mesentéricos**

A preparação dos linfonodos para análise consistiu na limpeza destes do mesentério que os envolvia, sendo efectuada com recurso a tesouras, pinças bico de pato e lâminas de bisturi desinfectadas com lixívia antes de serem utilizadas em cada linfonodo, na tentativa de manter um grau de assépsia aceitável do material utilizado. Após a limpeza do mesentério envolvente, os linfonodos foram passados em álcool a 70% com o objectivo de fixar e desinfectar a amostra, armazenados a 4°C em tubos de sangue sem anticoagulante e identificados (CI3, CI11, CI17, CI67, CI76, CI79, CI86, CI88, CI119, CI120, CI128, CI136 e CI140).

Para a digestão dos linfonodos, procedeu-se à preparação de um líquido de digestão composto por:

- 100 mL de PBS estéril;
- 0,52 grama de Tripsina.

Utilizou-se entre 1-1,5 grama de linfonodos mesentéricos por indivíduo, adicionou-se 5mL de líquido de digestão a cada um deles, colocaram-se em tubos de centrifuga de 15mL com tampa e identificaram-se. Depois de oito horas de incubação à temperatura ambiente (cerca de 22°C), as amostras foram centrifugadas durante 10 minutos a 1500rpm e a 4°C. O sedimento resultante da



centrifugação de cada uma das amostras foi retirado com uma pipeta de *Pasteur*, colocado em tubo *ependorff*; estes foram identificados e armazenados a 4°C.

### **Extracção de ADN de *T. gondii* através de QIAamp® DNA Mini Kit (GIA GEN)**

O procedimento foi o seguinte para cada uma das 13 amostras:

- 1) Colocou-se a amostra (600µl) num tubo de microcentrífuga de 1,5-2 mL (Figura 29);
- 2) Juntaram-se 180µl de tampão de lise ATL;
- 3) Juntaram-se 20µl de pK (proteínase K, pode ser congelada (Sigma 18 mg/mL) ou a que contém o kit e que não necessita de conservação pelo frio) – a pK utilizada neste trabalho foi a do kit;
- 4) Agitou-se no vortex;
- 5) Incubaram-se (três a oito horas) em termobloque a 56°C e com agitação (800-900 rpm);
- 6) Juntaram-se 200µl de tampão AL, agitou-se no vortex durante 15 segundos e centrifugou-se (à máxima velocidade durante alguns segundos);
- 7) Incubou-se a 70°C durante 12 minutos a 850rpm;
- 8) Juntaram-se 200µl de etanol (96-100%) e agitou-se no vortex durante 15 segundos;
- 9) Verteu-se o conteúdo à coluna (QIAamp® Mini Spin Column) que estava acoplada a um tubo colector de 2mL, centrifugou-se a 9000rpm durante 1,5 minutos;
- 10) Retirou-se o tubo colector de 2mL com o filtrado e colocou-se a coluna sobre um novo tubo colector;
- 11) Juntaram-se 500µl de tampão de lavagem AW1, centrifugou-se a 9000rpm durante dois minutos;
- 12) Retirou-se o tubo colector de 2mL com o filtrado e colocou-se a coluna sobre um novo;
- 13) Juntou-se 500µl de tampão de lavagem AW2, centrifugou-se a 12500 rpm durante quatro minutos;
- 14) Colocou-se a coluna sobre um tubo de 1,5 mL (livre de ADNase, ARNase e proteinases) e eliminou-se o tubo colector anterior;
- 15) Juntou-se 50µl de tampão de eluição AE, incubou-se à temperatura ambiente (cerca de 22°C) durante 5 minutos;
- 16) Centrifugou-se a 9000 rpm durante 1,5 minutos, descartou-se a coluna e o ADN ficou no tubo de 1,5 mL – este passo foi efectuado duas vezes.

### **Anexo 10. Protocolo da técnica ELISA indirecta**

Na pré diluição dos soros:

- Descongelaram-se os soros conservados a -65°C;
- Reconstituíram-se os reagentes necessários para a reacção;
- Realizou-se a pré diluição do soro em placas *COSTAR*® a uma concentração de 1/10.

Relativamente ao método:

- Encheram-se os poços da placa forrada com 100 µl da pré diluição. Empregaram-se dois controlos positivos, dois negativos e dois de conjugado ou brancos;
- Incubaram-se as placas a 21°C durante 45 minutos (com tampa para evitar a desidratação);
- Realizaram-se três lavagens com a solução de lavagem;
- Juntaram-se 100 µl por poço do conjugado a uma concentração de 1/100;
- Incubaram-se a 21°C durante 30 minutos;
- Realizaram-se três lavagens com a solução específica de lavagem;
- Juntaram-se 100 µl por poço de substrato (TMB);
- Incubou-se a 21°C durante aproximadamente 15 minutos no escuro;
- Deteve-se a reacção com 100 µl de solução de paragem;
- Procedeu-se à leitura da reacção num espectrofotómetro a um comprimento de onda de 450 nm.

## **Anexo 11. Equipamentos de análise**

- Agitador-incubador orbital *Braun Mod. Certomat-R*;
- Câmara de fluxo laminar *Telstar Mod. AV-100*;
- pH-metro *Radiometer Mod. PHM-92*;
- Leitor de placas ELISA *Merck System MIOS, Bio-Tek EIA Reader Mod. EL-307*;
- Dispensador e lavador de placas *Merck System MIOS*;
- Câmara de incubação *Termo Mod. Forma Orbital Shaker 420*;
- Centrifugadora refrigerada *Eppendorf Mod. 5810 R*;
- Microcentrifugadora *ALC Centrifugette Mod. 4204*;
- Congelador *Termo Mod. Forma -86°C ULT Freezer 905*;
- Estereomicroscópio *Nikon Mod. SMZ 1500*;
- Microscópio *Nikon Mod. Eclipse 80i*;
- Microscópio estereomicroscópio *Nikon SMZ-10*;
- Câmara fotográfica digital *Nikon DXM 1200F*;
- Filtros CISA 180 µm;
- Digestor artificial para o diagnóstico de *Trichinella* spp.;
- Bomba de vácuo *Titertek Mod. N76 KN18*;

- Balança de precisão *Sartorius Mod. LE623S*;
- Balança de precisão *PACISA Mod. Precisa 600C*;
- Câmara de biossegurança *Telstar Mod. AV-100*;
- Câmara de biossegurança *Telstar Mod. Bio-II-A/M*;
- Equipamento de documentação de géis *Biorad Mod. Gel-Doc 2000*;
- Equipamento de documentação de géis *UVP Mod. BioDoc-It Imaging System*;
- Fonte de alimentação *Biorad Mod. Power-Pac 300*;
- Fonte de alimentação *Consort Mod. E734*;
- Fonte de alimentação *Enduro Mod. Labnet International 300V*;
- Homogeneizador *Stomacher Mod. 400 Seward*;
- Incubadora *Thermo Mod. 3121 CO<sub>2</sub> Formaseries II*;
- Incubadora *Thermo Mod. Forma Orbital Shaker 420*;
- Microcentrifugadora *Eppendorf Mod. 5415 D*;
- Posto de PCR *Biosan Mod. UVC/T-AR*;
- Termobloco *Eppendorf Mod. Thermomixer comfort*;
- Termobloco *Selecta Mod. Tembloc Multiplaces*;
- Termociclador *Applied Biosystems Mod. GeneAmp PCR System 2700*;
- Termociclador *Applied Biosystems Mod. GeneAmp PCR System 9700*;
- Vórtex *Barnsted Thermolyne Mod. Type 37600 Mixer*.